

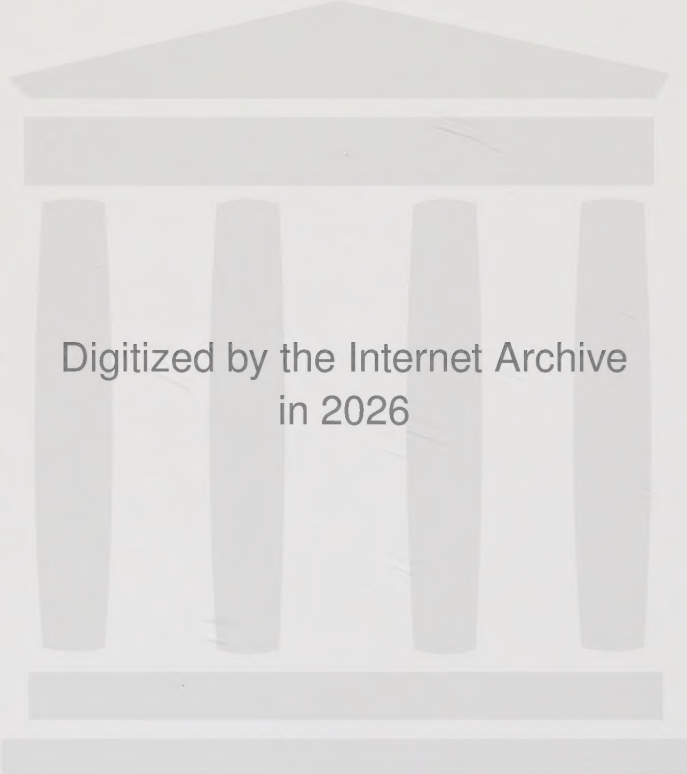
SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VORKOMMEN VON  
ANTIKÖRPERN GEGEN REOVIREN DER SEROTYPEN 1, 2 UND 3  
BEIM MENSCHEN

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde des  
Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität

von

Paul Fischer  
aus  
Kopenhagen

München 1979



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

Aus dem Zentrum der Hygiene, Abteilung für Medizinische  
Virologie der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main  
Leiter: Prof. Dr. G. May

Vorgelegt über das Institut für Medizinische Mikrobiologie,  
Infektions- und Seuchenmedizin des Fachbereichs  
Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-  
Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr

---

SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VORKOMMEN VON  
ANTIKÖRPERN GEGEN REOVIREN DER SEROTYPEN 1, 2 UND 3  
BEIM MENSCHEN

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde des  
Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität

von

Paul Fischer  
aus  
Kopenhagen

München 1979

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich  
Referent: Prof. Dr. Dr.h.c. A. Mayr  
Korreferent: Prof. Dr. E. Munz



Tag der Promotion: 27. Juli 1979

Inhaltsübersicht

=====

|                                                                                                                                         | <u>Seite</u> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| A. <u>Einleitung</u>                                                                                                                    | 3            |
| B. <u>Literatur</u>                                                                                                                     | 3            |
| 1. Klassifizierung der Säugerreoviren der Serotypen 1, 2 und 3                                                                          | 3            |
| 2. Reovirusinfektionen beim Menschen                                                                                                    | 4            |
| 2.1. Seroepidemiologische Untersuchungen                                                                                                | 4            |
| 2.2. Serumpaارuntersuchungen                                                                                                            | 7            |
| 2.3. Virusisolierungen                                                                                                                  |              |
| 3. Das klinische Bild der Reovirusinfektion beim Menschen                                                                               | 10           |
| 3.1. Natürlich vorkommende Infektionen                                                                                                  | 10           |
| 3.2. Experimentelle Infektionen                                                                                                         | 11           |
| 4. Das klinische Bild der Reovirusinfektion beim Haussäugetier nach natürlich vorkommender Infektion und nach experimenteller Infektion | 13           |
| 5. Ökologie der Reovirusinfektionen der Säuger                                                                                          | 16           |
| C. <u>Eigene Untersuchungen</u>                                                                                                         | 19           |
| 1. Material und Methode                                                                                                                 | 19           |
| 1.1. Virusstämme                                                                                                                        | 19           |
| 1.2. Zellkulturen                                                                                                                       | 20           |
| 1.3. Züchtung und Gewinnung des Saatvirus                                                                                               | 20           |
| 1.4. Titration des Hämagglutinins                                                                                                       | 20           |
| 1.5. Untersuchte Seren                                                                                                                  | 21           |
| 1.6. Vorbehandlung der Seren                                                                                                            | 24           |

|                                                                                                                                             | <u>Seite</u> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 1.6.1. Kaolinbehandlung                                                                                                                     | 24           |
| 1.6.2. $MnCl_2$ -Heparin-Behandlung                                                                                                         | 24           |
| 1.6.3. Isoagglutinin                                                                                                                        | 25           |
| 1.7. Hämagglutinationshemmungstest                                                                                                          | 25           |
| 1.8. Komplementbindungsreaktion                                                                                                             | 26           |
| <br>                                                                                                                                        |              |
| 2. Ergebnisse                                                                                                                               | 27           |
| 2.1. Eliminierung unspezifischer Inhibitoren<br>aus den Seren                                                                               | 27           |
| 2.2. Vorhandensein von Isoagglutininen in den<br>Seren                                                                                      | 27           |
| 2.3. Vorkommen von HAH-Antikörpern gegenüber<br>Reovirus der Serotypen 1, 2 und 3 in<br>Menschenserem                                       | 30           |
| 2.3.1. Prozentuale Häufigkeit positiver Seren<br>und durchschnittliche Antikörpertiter in<br>Seren von Personen unterschiedlichen<br>Alters | 32           |
| 2.3.2. Gegenüberstellung der serologischen<br>Befunde kranker und gesunder Personen                                                         | 37           |
| 2.4. Vorkommen komplementbindender Antikörper<br>in den Seren von Personen unterschiedlichen<br>Alters                                      |              |
| <br>                                                                                                                                        |              |
| D. <u>Besprechung der Ergebnisse</u>                                                                                                        | 44           |
| <br>                                                                                                                                        |              |
| E. <u>Zusammenfassung</u>                                                                                                                   | 49           |
| <br>                                                                                                                                        |              |
| F. <u>Literaturverzeichnis</u>                                                                                                              | 53           |
| <br>                                                                                                                                        |              |
| G. <u>Lebenslauf</u>                                                                                                                        |              |

## A. Einleitung

Infektionen mit Säugerreoviren der Serotypen 1, 2 und 3 spielen bei unseren Haustieren eine wichtige Rolle. Klinisch manifeste Infektionen mit diesen Erregern äußern sich vor allem in Erkrankungen des Respirationstraktes und konnten bei Pferd, Rind, Schaf, Hund und Katze nachgewiesen werden, bei Haustieren also, mit denen der Mensch in engem Kontakt lebt. Auch beim Menschen führt die Reovirusinfektion zu Symptomen, die denen beim Haustier vergleichbar sind. Der Übertragung der Reovirusinfektion vom Menschen auf das Tier und umgekehrt kommt innerhalb der Ökologie dieser Infektion sicher Bedeutung zu. Entsprechende Untersuchungsergebnisse liegen vor und waren auch der Anlaß, die Verbreitung von Infektionen mit Reoviren beim Menschen und ihre Beteiligung an apparenten Erkrankungen zu untersuchen und im Vergleich zu den Ergebnissen der Tierpopulationen des gleichen Raumes zu werten.

## B. Literatur

### 1. Klassifizierung der Säugerreoviren der Serotypen 1, 2 und 3

Die Klassifizierung basiert auf dem Vorschlag von FENNER et al. (18). Danach gehören die Reoviren in die Familie Reoviridae, die in die Genera Reovirus, Orbivirus und Rotavirus unterteilt werden können. Der Genus Reovirus umfaßt 3 Säuger- und 5 Geflügelserotypen. Der folgende Abschnitt befaßt sich nur mit Reoviridae des Genus Reovirus. Die Säugerserotypen 1 und 3 sind einheitlich, der Serotyp 2 kann in 4 Subtypen unterteilt werden (21). Die WHO schlägt folgende Referenzstämme für Säugerreoviren vor:

|           |               |
|-----------|---------------|
| Serotyp 1 | Stamm "Lang"  |
| Serotyp 2 | Stamm "Jones" |
| Serotyp 3 | Stamm "Abney" |

Die Reoviren besitzen eine doppelsträngige Ribonukleinsäure (RNS) in 10 geraden Segmenten. Das Molekulargewicht der RNS-Segmente differiert von 0,5 bis  $3,0 \times 10^6$  Daltons, das Molekulargewicht des gesamten Genoms beträgt  $14 - 15 \times 10^6$  Daltons. Der Guanin-(G) und Cytosin-(C) Gehalt beträgt 42 - 44 %. Das Virion ist isometrisch, nicht umhüllt und 60 - 80 nm im Durchmesser. Es hat eine doppelte Kapsidschicht, die Struktur der äußeren Kapsidschicht ist unklar, die Struktur der inneren Kapsidschicht besteht in einer ikosaedrischen Symmetrie. Die innere Schicht ist 45 nm im Durchmesser, umgeben von einer äußeren Schicht mit 92 Kapsomeren. Die Replikation des Virus findet im Zytoplasma der infizierten Zelle statt, es treten intrazytoplasmatische Einschlusskörperchen auf. Die Dichte des Virus beträgt in  $\text{CsCl}_3$   $1,36 \text{ g/cm}^3$ . Die Infektiosität der Reoviren ist unempfindlich gegenüber Äther- oder Säurebehandlung (19). Säugerreoviren hämagglutinieren graduell unterschiedlich stark Erythrozyten aller Blutgruppen des Menschen, auch Erythrozyten vom Schwein und Serotyp 3 in geringem Grade auch Erythrozyten des Rindes (61). Erythrozyten von Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Mäusen (33), Pferd und Geflügel (63) werden von den Säugerreoviren auch unter verschiedenen Inkubationsbedingungen nicht agglutiniert. Zwischen den Agglutininen der 3 Serotypen besteht eine quantitativ unterschiedlich stark ausgeprägte antigene Beziehung. Dies ist die Ursache für sog. heterologe Mitreaktionen in der Hämagglutinationshemmung (HAH). Alle 3 Serotypen verfügen über ein gemeinsames komplementbindendes Antigen.

## 2. Reovirusinfektionen beim Menschen

### 2.1. Seroepidemiologische Untersuchungen

Auf Grund serologischer Untersuchungen stellten TAYLOR-ROBINSON und TYRRELL (54) fest, daß mit steigendem Alter des Menschen auch mehr von ihnen Antikörper gegen Reoviren be-

sitzen. Dabei waren Antikörper gegen Serotyp 2 öfter nachweisbar als gegenüber Serotyp 1. Dies gilt sowohl für die hämagglutinationshemmenden als auch für die virusneutralisierenden Antikörper. Die Untersuchung erstreckte sich nicht auf Antikörper gegenüber Serotyp 3.

LERNER et al. (32) untersuchten 1962 235 Seren von Patienten verschiedenen Alters und von Frühgeburten auf Antikörper gegenüber den drei Reovirus Serotypen. 60 % der Frühgeburten wiesen in ihren Seren Antikörper gegenüber Serotyp 2 auf. Der Prozentsatz positiver Seren bei den übrigen Patienten fiel innerhalb des ersten Lebensjahres auf Werte unter 10 % ab, um dann besonders bei den 6 - 10-jährigen Patienten wieder stark anzusteigen. Ab dem 41. Lebensjahr entsprach der Prozentsatz positiver Seren dem, der bei den Seren von Frühgeburten nachgewiesen wurde. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, daß die hämagglutinationshemmenden Antikörper via Plazenta von der Mutter auf das Kind weitergegeben werden. Die passiv übertragenen Antikörper ließen sich bis zum Alter von 6 Monaten in den Seren der Kinder nachweisen.

EL-RAI und EVANS (16) untersuchten 1963 190 Seren von Studenten und 103 Seren von Kindern im HAH-Test auf Antikörper gegenüber den Serotypen 1, 2 und 3. 50 % der Erwachsenen und 25 % der Kinder wiesen gegenüber einem oder mehreren der untersuchten Serotypen Antikörper auf.

Bei der Untersuchung von 66 Serumpools stellten STANLEY et al. (52) fest, daß 79 - 92 % Antikörper gegenüber Reovirus Serotyp 1, 47 - 55 % gegenüber Serotyp 2 und 36 - 57 % gegenüber Serotyp 3 enthielten. Von 156 Einzelseren bis zu 15 Jahre alten Kindern wiesen 12 - 48 % Antikörper gegenüber Serotyp 1, 15 - 26 % gegenüber Serotyp 2 und 13 - 21 % gegenüber Serotyp 3 auf.

In der DDR untersuchten SCHMIDT et al. (48) 1965 406 Seren im HAH-Test. 87,9 % der untersuchten Seren reagierten positiv

gegenüber Serotyp 2 und 48,8 % gegenüber Serotyp 1. Die Untersuchung erstreckte sich nicht auf Antikörper gegenüber Serotyp 3.

1965 testete TAYLOR-ROBINSON (55) 234 Seren von Menschen aus 15 verschiedenen Ländern auf Reovirus-Antikörper des Serotyps 1 und 2. 79 % der Seren reagierten positiv gegenüber Serotyp 1 und 87 % positiv gegenüber Serotyp 2.

LEERS und ROZEE (31) testeten 512 Seren von Kindern im Alter von 1 Monat bis zu 10 Jahren auf HAH-Antikörper gegen die 3 Reovirus-Serotypen. Antikörper gegen Serotyp 1 wiesen 34 % der untersuchten Seren auf, gegen Serotyp 2 44 % und gegen Serotyp 3 46 %. Eine deutliche Zunahme positiver Seren zeigte sich bei den neu eingeschulten Kindern.

1966 untersuchten BROWN und TAYLOR-ROBINSON (13) Seren isoliert lebender Menschen auf Antikörper gegen Reovirus aller drei Serotypen. Es lag die Vermutung nahe, daß diese Menschen nicht so häufig Viruskontakt haben könnten, als auf engem Raum in großer Zahl zusammenlebende Menschen. Die Verfasser stellten jedoch fest, daß bei den Hottentotten Süd-Afrikas 82 % positiv gegenüber Serotyp 1, 48 % positiv gegenüber Serotyp 2 und 98 % positiv gegenüber Serotyp 3 reagierten. Bei Eskimos Nord-Amerikas reagierten 38 % positiv gegenüber Serotyp 1, 48 % positiv gegenüber Serotyp 2 und 45 % positiv gegenüber Serotyp 3. Von den untersuchten Seren der Mikronesier (Mikronesische Inseln im Pazifischen Ozean) reagierten 76 % positiv gegenüber Serotyp 1, 47 % positiv gegenüber Serotyp 2 und 79 % gegenüber Serotyp 3.

Bei der Untersuchung von insgesamt 365 Seren von Menschen aus Süd-Indien kamen GEORG und JOHN (20) zu dem Ergebnis, daß 76 % der untersuchten Seren positiv gegenüber Serotyp 1, 70 % positiv gegenüber Serotyp 2 und 60 % positiv gegenüber Serotyp 3 reagierten.

1972 untersuchten ANDERSON und MUFSON (2) 144 Seren von Einwohnern in Lokori und Kaloko in Nord-Kenia. Von den untersuchten Seren reagierten 10 - 20 % positiv gegenüber Serotyp 1 und 2, in keinem Serum waren Antikörper gegenüber

Serotyp 3 nachweisbar.

Innerhalb ihrer serologischen Untersuchungen von 160 Serumpaaren erkrankter sowie 47 Einzelseren gesunder Personen wiesen THEIN und EPP (66) in 90 - 94 % der untersuchten Einzelseren Antikörper gegenüber Serotyp 3 und in 40 - 50 % Antikörper gegenüber Serotyp 1 und 2 nach.

## 2.2. Serumpaaruntersuchungen

34 Serumpaare von Kindern aus einem amerikanischen Waisenhaus, bei dessen Insassen gehäuft sogenannte Erkältungskrankheiten beobachtet wurden, wurden von ROSEN et al. (42) im HAH-Test auf Antikörper gegen Reovirus Serotyp 3 untersucht. 76 % der untersuchten Serumpaare zeigten Titeranstiege gegenüber diesem Serotyp.

LERNER et al. (32) diagnostizierte 1960 bei sieben erkrankten Kindern eine Reovirus-Typ 2-Infektion auf Grund von Serokonversion im HAH-Test während der Rekonvaleszenz.

EL-RAI und EVANS (16) untersuchten Serumpaare von 190 Patienten mit Infektionskrankheiten. In den Seren von zwei dieser Patienten mit Pneumonie und fieberhaftem Exanthem konnten signifikante Titeranstiege gegenüber allen 3 Serotypen nachgewiesen werden. Bei der Untersuchung von 130 Serumpaaren von Kindern mit den Symptomen einer infektiösen Erkrankung des Zentralnervensystems konnte in zwei Fällen Serokonversion gegenüber allen drei Reovirus Serotypen festgestellt werden.

1962 konnten ZALAN et al. (77) bei zwei erkrankten Kindern eine Reovirus-Typ 2-Infektion auf Grund von Serokonversion während der Rekonvaleszenz feststellen. Das eine Kind, ein fünfjähriges Mädchen, litt an Magenschmerzen während das zweite Kind, ein zehnjähriger Junge, fieberhafte Kopf- und Muskelschmerzen zeigte.

THEIN und EPP (66) untersuchten 1978 160 Serumpaare erkrankter Menschen aus dem Raume Oberbayern, Niederbayern und

Schwaben im HAH-Test auf Antikörper gegen alle 3 Serotypen. 16,3 % der an einer Pneumonie, 13,8 % der an einer Myokarditis/Perikarditis und 10,3 % der an einer Rhinitis/Pharyngitis Erkrankten zeigten Serokonversionen gegenüber Reoviren.

### 2.3. Virusisolierungen

Von einem Kind australischer Ureinwohner, das an einer schweren Bronchopneumonie erkrankt war, wurde von STANLEY et. al. (50) ein Virus isoliert, das bei experimenteller Infektion von Mäusen zu einer Hepatitis und Encephalitis führte. Zusätzlich trat der sog. "oily hair effect" auf. Auf Grund dieser Erscheinung wurde es Hepatoencephalomyelitis-Virus (HEV) genannt. Klinisch manifeste Reovirusinfektionen wurden bei Kindern in den USA und Mexiko festgestellt (47). Serologisch ähnliche Stämme konnten später von Kindern mit Erkrankungen des Respirations- und Darmtraktes isoliert werden (47). 1955 isolierten ROSEN et al. (42) bei vier Kindern aus Rachenabstrichen Reovirus Serotyp 3. Zur Zeit der Virusisolierung waren die Kinder an einer fieberhaften Erkältung erkrankt. Im Winter 1957 wurde von ROSEN (43) bei 43 Kindern eine Infektion mit Reovirus Serotyp 1 diagnostiziert; die Virusisolierung gelang aus Rachenabstrichen und Stuhlproben. 1957 beobachtete VAN TONGEREN (72) eine Infektion mit dem HEV in einer niederländischen Familie. Das aus dem Stuhl eines der Kinder isolierte Virus führte nach experimenteller Infektion bei der Maus zu den typischen Symptomen der Hepatitis-Encephalo-Myelitis und des "oily hair effect".

ZALAN et al. (77) isolierten 1962 Reovirus Serotyp 2 aus 3 Patienten im Alter von 5, 9 und 10 Jahren. Ein fünfjähriges Mädchen zeigte Magenschmerzen, ein neunjähriges Mädchen Kopfschmerzen, Magenkrämpfe und Knieschmerzen und der zehnjährige Junge litt unter Fieber, Kopfschmerzen und Muskelschmerzen.

LERNER et al. (32) konnten im Rahmen ihrer Untersuchungen an 235 Patienten mit Exanthem und Pneumonie Reoviren isolieren. Die Autoren kamen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß Reovirusinfektionen beim Menschen in erster Linie asymptomatisch verlaufen. Aus Rachenabstrichen und Stuhlproben gelang ihnen bei 2 erkrankten Kindern während des 4. und 7. Tages der Erkrankung und bei einem 3. Patienten ohne klinische Symptome die Isolation von 6 Reovirus-Stämmen des Serotyps 2. 6 der sieben erkrankten Kinder zeigten ein Exanthem, das 7. war symptomfrei. Nach intraperitonealer Applikation an Babymäuse verursachten diese Isolate den typischen "oily hair effect" und Alopezie. Eine Beziehung der Reovirusinfektion zu dem vorhandenen Exanthem ließ sich nicht eindeutig nachweisen, andererseits konnte eine mögliche Reovirusätiologie auch nicht ausgeschlossen werden. 1964 gelang es BELL et al. (11) aus einem an Burkitt-Lymphom erkrankten Menschen Reovirus Serotyp 3 zu isolieren. Auf Grund serologischer Untersuchungen kamen die Verfasser zu dem Ergebnis, daß bei Kindern mit Burkitt-Lymphom häufiger Antikörper gegen Reoviren vorliegen als bei gesunden Kindern. In Anbetracht der weiten Verbreitung der Reoviren und der vielen Schwankungen in den serologischen Ergebnissen ist es jedoch nicht anzunehmen, daß Reovirus Serotyp 3 in einem ätiologischen Zusammenhang mit dem Burkitt-Lymphom steht (12, 39).

Bei einem fünfjährigen Mädchen, das an einer interstitiellen, abakteriellen Pneumonie verstorben war, konnten TILLOTSON und LERNER (68) 1966 Reovirus vom Serotyp 3 aus der Lunge isolieren. Der Virusnachweis gelang ferner in Lymphknoten, Blut, Herz, Leber, Niere, Nebenniere, Gehirn und Milz.

### 3. Das klinische Bild der Reovirusinfektion des Menschen

#### 3.1. Natürlich vorkommende Infektionen

Auf Grund von Virusisolation und nachgewiesener Seroconversion lassen sich nach THEIN und SCHEID (61) die klinisch manifesten Reovirusinfektionen in die folgenden 4 Gruppen unterteilen:

1. Infektionen mit dem klinischen Bild einer Hepatitis-Encephalitis.
2. Infektionen der oberen und unteren Atemwege.
3. Infektionen des Darmtraktes.
4. Generalisierte Infektionen.

In den meisten Fällen, in denen Reoviren an klinisch apparenten Infektionen beteiligt sind, handelt es sich um Erkrankungen von Säuglingen und Kleinkindern. Der Serotyp 1 scheint bei Erwachsenen häufiger an Infektionen der oberen Atemwege mit dem klinischen Bild des "common cold" beteiligt zu sein (22, 23, 24, 46).

Zusätzlich wurde eine Mitbeteiligung aller 3 Serotypen an Infektionen sowohl der oberen als auch der unteren Atemwege, beschrieben (16, 25, 32, 50, 66, 68, 69, 71). Die Serotypen 1, 2 und 3 wurden von Patienten mit Encephalitis, Encephalomyelitis, Meningitis und Hepatoencephalitis isoliert (25, 29, 72). In den wenigsten Fällen jedoch konnten die Isolate ursächlich für die beobachtete Erkrankung verantwortlich gemacht werden.

Bei Kindern mit fieberhaftem Exanthem konnten Serotyp 2 (32) und 3 (68, 69) als Infektionserreger nachgewiesen werden.

Weiterhin wurden Reoviren für Erkrankungen bei Kindern verantwortlich gemacht, die mit dem klinischen Bild einer generalisierten fieberhaften Infektion, Erkältung, Diarrhoe und Steatorrhoe einhergingen (24, 46).

Untersuchungen an Neugeborenen und Kleinkindern (71) ließen die Vermutung zu, daß Infektionen mit Reoviren mit der kongenitalen Pneumonie, Pneumopathie und Diarrhoe im Säuglingsalter in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden können. Infektionen durch Reoviren wurden überwiegend in Kindergärten, Schulen usw. diagnostiziert; meistens verliefen diese Erkrankungen unter dem klinischen Bild einer Infektion der Atemwege, häufig verbunden mit einer Infektion des Darmtraktes, (24, 46).

THEIN und EPP (66) fanden bei ihren Untersuchungen von 160 Serumpaaren erkrankter erwachsener Menschen aus Süddeutschland, daß 16,3 % der an einer Pneumonie, 13,8 % der an einer Myokarditis/Perikarditis und 10,3 % der an einer Rhinitis/Pharyngitis Erkrankten Serokonversion gegenüber Reoviren zeigten. Auch diese Verfasser kamen zu dem Ergebnis, daß die Infektion mit Reoviren beim Menschen vorwiegend eine Infektion des Säuglings- und Kindesalters ist und klinisch die inapparente Verlaufsform überwiegt.

Bei einer großen Zahl von Menschen, die an Burkitt's-Lymphom erkrankt waren, konnte Reovirus Serotyp 3 isoliert werden (24, 46). Allerdings steht der ätiologische Zusammenhang der Infektion mit Reoviren und der Entstehung von Tumoren auf sehr hypothetischem Fundament. Im Rahmen serologischer Untersuchungen an afrikanischen Kindern konnte keine direkte Beteiligung von Reovirus Serotyp 3 am Zustandekommen des Burkitt's-Lymphom nachgewiesen werden (39). Es scheint, daß das Virus nur in Verbindung mit anderen Faktoren als ätiologisches Agens diskutiert werden darf.

### 3.2. Experimentelle Infektionen

1961 infizierten JACKSON et al. (22) Freiwillige intranasal mit Reovirus Serotyp 1 ( $10^3$  KID<sub>50</sub>/ml). Die Infektion verlief

klinisch inapparent. Aus dem Nasensekret eines Patienten mit Erkältung konnten JACKSON et al. (23) 1963 ein Reovirus des Serotyps 1 isolieren. Der Patient zeigte gleichzeitig Seroconversion gegenüber Rhinoviren. Mit dem Nasensekret dieses Patienten infizierten die Autoren 64 Freiwillige. 26 der experimentell infizierten Personen erkrankten nach 3 bis 5 Tagen an einem fieberlosen Schnupfen.

ROSEN et al. (45) führten 1963 Infektionsexperimente mit Freiwilligen durch. Drei Gruppen à 9 Personen wurden mit den Serotypen 1, 2 und 3 humaner Herkunft infiziert. Die eingesetzten Viren hatten Infektiositätstitern von  $10^{5,5}$ ,  $10^{6,5}$  und  $10^{7,5}$  KID<sub>50</sub>/ml. 3 von 9 Personen in der jeweiligen Gruppe erkrankten nach Infektion mit Serotyp 1 oder 2, nach Infektion mit Serotyp 3 erkrankten 2 der 9 Personen. Nach einer Inkubationszeit von 1 - 3 Tagen war die Infektion mit den Serotypen 1 und 2 gefolgt von Nasenausfluß, Husten, Pharyngitis und Kopfschmerzen. Die Infektion mit Serotyp 3 führte zu einer milden Rhinitis. Die Erkrankung dauerte 4 bis 7 Tage. 8 Patienten reagierten auf die Infektion mit Serotyp 1 oder 3 mit einem signifikanten homologen Antikörperanstieg, nur 2 Patienten, die mit Serotyp 2 infiziert worden waren, entwickelten Seroconversion gegenüber diesem Serotyp. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen stimmen mit den Infektionsexperimenten von KNIGHT et al. (27) überein. Diese Autoren hatten Freiwillige mit Reovirus Serotyp 1 boviner Herkunft intranasal infiziert.

KASEL et al. (26) infizierten 3 Freiwillige intranasal mit einem aus einem Kalb isolierten Reovirus vom Serotyp 1 ( $0,5 \times 10^{8,5}$  KID<sub>50</sub>/ml). Die Freiwilligen wurden über einen Zeitraum von 3 Wochen beobachtet. Während dieser Zeit blieben alle Patienten fieberfrei, in 2 Fällen trat am 9. Tag p.i. Erbrechen und in einem Fall Rhinitis zwischen dem 3. und 8. Tag p.i. auf. Alle klinisch-chemischen Untersuchungen blieben negativ. Im Rahmen der Infektion entwickelten die

Patienten HAH-Antikörper gegenüber allen 3 Serotypen, mit Titermaxima in der 3. Woche p.i. Diese Antikörper persistierten bis zu einem halben Jahr p.i.

#### 4. Das klinische Bild der Reovirusinfektion beim Haus- säugetier nach natürlich vorkommender und nach ex- perimenteller Infektion

Bisher konnte auf Grund von Virusisolierungen und Untersuchungen von Serumpaaren akut erkrankter Haustiere die Beteiligung von Reoviren an klinisch manifesten Infektionen bei Pferd, Rind, Schaf, Hund und Katze nachgewiesen werden.

Im Rahmen seiner Untersuchungen zur Beteiligung von Reoviren an Infektionen der Atemwege des Pferdes konnte von THEIN (56, 57, 58, 59, 60, 62, 64, 65) der Nachweis erbracht werden, daß Reoviren sowohl allein als auch in Form von Mischinfektionen zu klinisch manifesten Erkrankungen bei dieser Spezies führen können. Über die Untersuchung von Serumpaaren akut erkrankter Pferde konnte THEIN (57) 1974 und THEIN und MAYR (56) 1974 erstmals das klinische Bild der Reovirusinfektion des Pferdes beschreiben. Die Verfasser kamen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß die natürlich vorkommende Infektion mit Reovirus Serotyp 1 und 3 beim Pferd zu einer Erkrankung der Atemwege mit Leistungsabfall, serösem Nasen- und Augenausfluß, Konjunktivitis und Husten führt. 1974 konnte THEIN (58, 59) aus der Rachenschleimhaut eines Pferdes mit schwerer Infektion der oberen und unteren Luftwege ein Reovirus vom Serotyp 1 isolieren. Im Rahmen dieser Erkrankung kam es zu Hustenanfällen mit erstickungsähnlichen Zuständen und expiratorischer Dyspnoe. ERASMUS et al. (17). berichteten 1976 über Erkrankungen von Pferden in Südafrika mit dem ähnlichen klinischen Bild einer schweren respiratorischen Infektion. Aus einem dieser Pferde gelang ihnen die Isolation eines Reovirus Serotyp 3. 1977 wies THEIN (65) erstmals virologisch eine Mischinfektion bei Pferden nach, die durch Reovirus Serotyp 3

und Rhinopneumonitisvirus verursacht wurde. Die Infektion verlief hochfieberhaft mit respiratorischen und intestinalen Symptomen. Über die virologische Untersuchung von Nasentupferproben akut erkrankter Pferde konnten gleichzeitig ein Reovirus Serotyp 3 sowie Rhinopneumonitisvirus isoliert werden. Durch Serumpaaruntersuchungen wurde die Diagnose bestätigt. Bei der experimentellen Infektion von Pferden sowohl mit Reovirus Serotyp 1 als auch 3 konnte von THEIN und THEIN et. al. (56, 57, 60, 61) das nach natürlicher Infektion beobachtete klinische Bild reproduziert werden. Mit dem von ihm weiterpassierten Pferdeisolat Serotyp 1 Stamm T 98 infizierte THEIN (60) erwachsene und junge Pferde, die daraufhin an einer klinisch manifesten Infektion des Respirationstraktes mit der Ausbildung des sog. "Follikelkatarrhs" an Pharynx und Larynx erkrankten. Damit wurde erstmals experimentell nachgewiesen, daß die reine Reovirusinfektion zur klinisch manifesten Erkrankung beim Pferd führen kann, innerhalb derer es auch zur Ausbildung der bis zu diesem Zeitpunkt ätiologisch der Rhinopneumonitisvirusinfektion zugeordneten (78, 79) follikulären Schleimhautreaktion im Rachen- Kehlkopfbereich kommen kann. ERASMUS et al. (17) infizierten zwei Pferde mit den von ihnen isolierten Reoviren über intravenöse Applikation. Das klinische Bild dieser Infektion entsprach weitgehend dem, das THEIN und MAYR (56) in ihren Infektionsexperimenten beobachtet hatten.

Die weite Verbreitung der Reovirusinfektion unter Rindern konnte durch serologische Untersuchungen wiederholt nachgewiesen werden (40, 41, 74, 75, 76). 1966 konnten DAWSON, LAMONT und DARBYSHIRE (15) und 1968 LAMONT et al. (30) in Großbritannien durch die Untersuchung von Serumpaaren respiratorisch erkrankter Kälber und Rinder die ursächliche Mitbeteiligung der Serotypen 1 bzw. 2 an der Infektion nachweisen. Bei der Untersuchung respiratorisch erkrankter Rinder kam WELLEMANN (73) 1969 in Belgien zu vergleichbaren Ergebnissen. ROSEN, ABINANTI und HOVIS (44) beschrieben im Rahmen einer serologisch nachgewiesenen Reovirusinfektion

mit Serotyp 1 bei Kälbern serösen Nasenausfluß, Lakrimation und milden Durchfall. Bei Rindern in 3 von insgesamt 14 untersuchten Beständen, welche an sog. "Rinder Grippe" erkrankt waren, konnte von WIZIGMANN und REINHARDT (74) durch Untersuchung von Serumpaaren die Mitbeteiligung von Reoviren der Serotypen 1 bzw. 2 am Infektionsgeschehen nachgewiesen werden. WIZIGMANN (76) untersuchte Serumpaare von Rindern aus 28 Beständen mit Rinder Grippe. Hierbei konnte er die Mitbeteiligung von Reoviren am Zustandekommen der Rinder Grippe in 14 dieser Bestände sowohl serologisch als auch virologisch nachweisen. ROSEN und ABINANTI (41) begannen 1960 Infektionsexperimente bei Rindern mit den von Menschen isolierten Reovirus Serotypen 1, 2 und 3. LAMONT et al. (30) infizierten 1968 Kälber mit dem Serotyp 1 und 2, während TRAINOR et al. (70) Kälber mit dem Serotyp 1 infizierten. Alle Autoren erzielten in ihren Infektionsexperimenten klinisch mild verlaufende respiratorische Erkrankungen der infizierten Tiere.

In Nordirland wiesen MCFERRAN et al. (37) 1969 auf eine Mitbeteiligung von Reoviren am Krankheitsgeschehen bei enteritisch erkrankten Lämmern hin. BELAK und PALFI (7) isolierten 1974 den Reovirus Serotyp 1 aus Lämmern mit Erkrankungen des Respirations- und Digestionstraktes. 1974 beobachteten BELAK, PALFI und HUSZAR (9) bei Schafen Erkrankungen der oberen Luftwege, die teilweise mit tödlich verlaufenden Enteritiden vergesellschaftet waren. Auf Grund ihrer Untersuchungen machten diese Autoren in 13 % des Lämmersterbens den Reovirus Serotyp 1 als ursächlichen Krankheitserreger verantwortlich. 1974 konnten BELAK und PALFI (10) aus 3 Wochen alten Lämmern, die unter fieberhaften respiratorischen und intestinalen Symptomen erkrankt waren, den Reovirus Serotyp 1 isolieren. Innerhalb experimenteller Infektionen mit dem isolierten Reovirus Serotyp 1 konnten BELAK et al. (8) in Lämmern das bei der natürlich aufgetretenen Infektion beobachtete Krankheitsbild reproduzieren.

Durch Serumpaارuntersuchungen respiratorisch erkrankter Hunde konnten BINN et al. (6) 1970 neben Staupe-, Adeno- und Influenzaviren auch die Mitbeteiligung von Reovirus Serotyp 1 am Infektionsgeschehen nachweisen. 1963 isolierten LOU und WENNER (34) aus Pharynx und Lunge eines an einer Erkrankung der Atmungsorgane gestorbenen Hundes ein Reovirus des Serotyps 1. In seroepizootologischen Untersuchungen wurde in Hundezwingern durch ACKERMANN (1) und BIBRACK (4) nachgewiesen, daß Mischinfektionen mit Reovirus Serotyp 3 und Influenzavirus A<sub>2</sub>/Hongkong weit verbreitet sind. Auf Grund von Serumpaارuntersuchungen wiesen diese Autoren eine Mitbeteiligung von Reoviren am Zustandekommen des Zwingerhustens nach (5). MASSIE und SHAW (35) konnten 1966 aus natürlich infizierten Hunden den Reovirus Serotyp 1 isolieren. Die Hunde zeigten folgende klinische Krankheitssymptome: Husten, Nasenausfluß, eitrige Konjunktivitis, Laryngotracheitis und Pneumonie, in einigen Fällen Durchfall. Die experimentelle Infektion von Saugwelpen mit Reovirus Serotyp 1 hatte Durchfall, Augen- und Nasenausfluß sowie Husten zur Folge. Bei der Obduktion der infizierten Tiere konnte histologisch eine Pneumonie festgestellt werden (34, 35).

Aus dem Verdauungstrakt von Katzen wurde wiederholt Reovirus Serotyp 3 isoliert (14, 49). Nach experimenteller Infektion von Katzen mit diesem Serotyp konnten Mattigkeit, Lakrimation und Konjunktivitis beobachtet werden. 16 von 28 mit den künstlich infizierten Katzen in Kontakt gehaltene gesunde Katzen erkrankten unter denselben Symptomen.

##### 5. Ökologie der Reovirusinfektion der Säuger

Alle bisher erhaltenen Untersuchungsergebnisse zum Nachweis des Vorkommens und der Verbreitung von Infektionen mit Reoviren bestätigen, daß Reovirusinfektionen unter Vertebraten aller untersuchten Spezies der verschiedenen Länder und Kon-

tinente nachzuweisen waren. Innerhalb der einzelnen Säugerspezies, incl. dem Menschen, ergaben sich vergleichbare Durchseuchungsprocentsätze. Daraus ist erkennbar, daß die Reoviren tief in der Biozönose verwurzelt sind. Ihr Anteil an klinisch manifesten Infektionen ist, gemessen an dem hohen Durchseuchungsgrad der untersuchten Populationen, gering, die klinisch inapparente Infektion dominiert. Infektionsbegünstigende innere und äußere Stressoren führen dazu, daß die Infektion mit den sekundär pathogenen Reoviren in die klinisch manifeste Infektion konvertieren kann (36). Sowohl im Rahmen natürlich vorkommender als auch experimentell durchgeführter Infektionen wurde nachgewiesen, daß die Virusausscheidung in erster Linie über Se- und Exkrete des Respirations- und Digestionstraktes, die Virusaufnahme über direkten Kontakt, vorwiegend über Inhalation, gerade bei Kleinkindern auch auf oralem Wege geschieht.

Neben der horizontalen Übertragung spielt offensichtlich auch die vertikale Übertragung von der infizierten Mutter auf den Embryo eine Rolle, wie die Untersuchungen von TROFIMOV (71) beim Menschen von CSIZA (14) bei der Katze ergeben haben.

Jedes einmal infizierte Individuum ist als Virusausscheider und potentiell Virusreservoir anzusehen. Auf Grund des breiten Wirtsspektrums der Säugerreoviren muß mit Virusübertragung auch unter Vertretern verschiedener Spezies gerechnet werden. Erfolgreiche Infektionsexperimente, die an Mensch oder Haustier mit Virusisolaten aus heterologen Spezies unternommen wurden, bestätigen diese Möglichkeit. Nicht nur der Mensch ist deshalb bei der Virusübertragung als Vektor anzusehen. Daß es auch im Rahmen natürlich vorkommender Infektionen zur Virusübertragung unter verschiedenen Spezies kommen kann, beweisen die Befunde von THEIN und MAYR (56) und von THEIN (62). Diese Autoren wiesen nach, daß die Infektion mit Serotyp 1 und 3 vom experimentell infizierten Pferd per vias naturalis auf den Menschen übergehen

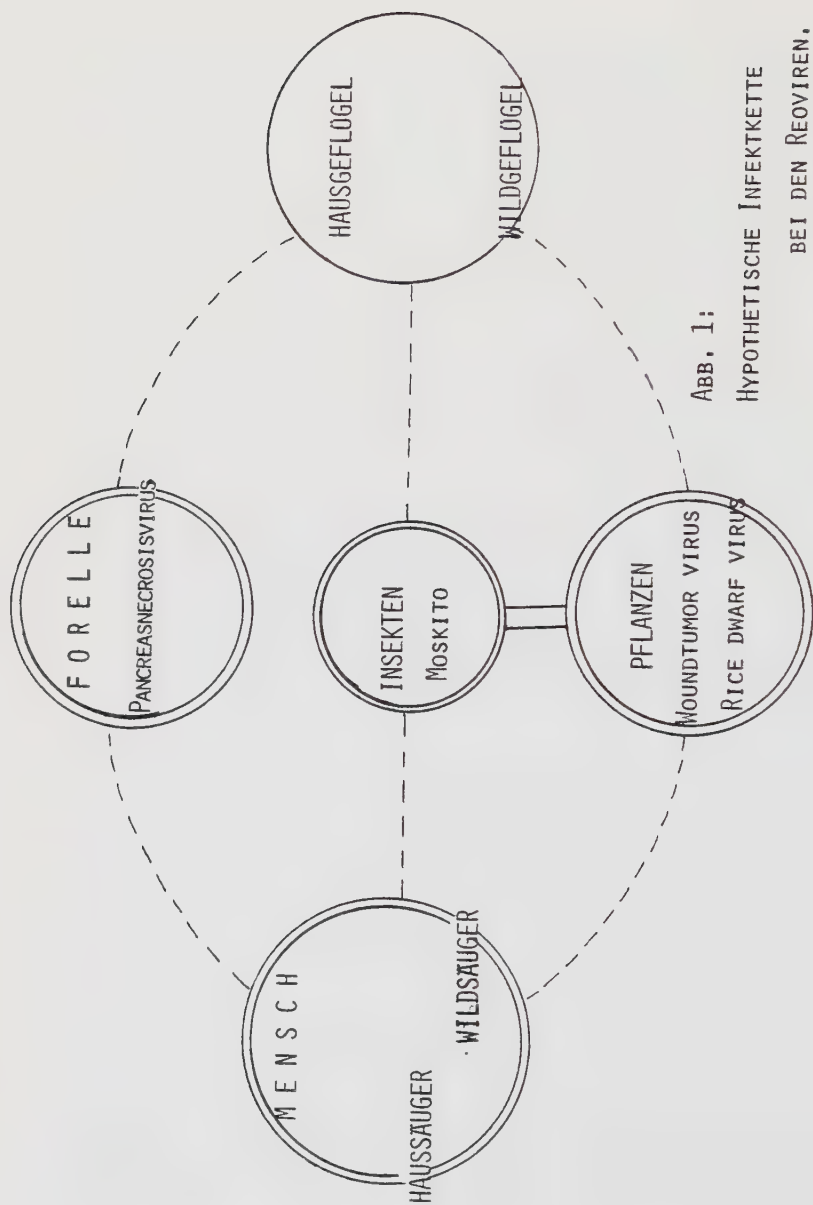


Abb. 1:

HYPOTHETISCHE INFEKTKETTE

BEI DEN REOVIREN.

(NACH MAYR UND THEIN)

kann. Darüberhinaus liegen von THEIN (66, 67) Untersuchungen vor, denen zufolge unter natürlichen Bedingungen auch Virusübertragungen vom Menschen auf das Pferd stattfinden können. Auf Grund all dieser Befunde ist die Infektion mit Säugerreoviren der Serotypen 1, 2 und 3 der Gruppe der Zoonosen zuzurechnen.

Nach MILES et al. (38) muß der Übertragung speziell des Reovirus Serotyp 3 über Moskitos zwischen Vertebraten verschiedener Spezies Beachtung geschenkt werden. Diese Form der Infektionsübertragung konnte allerdings noch nicht abgesichert werden. Unbelebten Vektoren, wie z.B. viruskontaminierten Abwässern muß bei der Weiterverbreitung der Infektion Beachtung geschenkt werden (28). Eine zusammenfassende Darstellung der hypothetischen Infektkette bei den Reoviren ist mit folgender Abbildung gegeben (Abb. 1).

## C. Eigene Untersuchungen

### 1. Material und Methoden

#### 1.1. Virusstämme

Für die serologischen Untersuchungen zum Nachweis hämagglutinationshemmender Antikörper wurden folgende Reovirusstämme eingesetzt:

- a) Reovirus Serotyp 1, Stamm T 98 (59) in der 10. Passage auf Vero (CCL-81)-Zellen (Veropassage) mit einem Hämagglutinationstiter (HA) von 1 : 64
- b) Reovirus Serotyp 2, Stamm Jones, 9. Veropassage, HA-Titer von 1 : 128
- c) Reovirus Serotyp 3, Stamm Dearing, 10. Veropassage, HA-Titer von 1 : 32

## 1.2. Zellkulturen

Zur Viruszüchtung wurde der Affennierenzellstamm Vero (CCL-81) verwendet. Als Medium diente Earle-Minimal-Essential-Medium (Earle MEM) unter Zusatz von 10 % foetalem Kälberserum; als Erhaltungsmedium diente Leibowitz-Medium (L 15) mit Zusatz von 5 % foetalem Kälberserum.

Die Herstellung von Subkulturen erfolgte nach der allgemein üblichen Methode unter Verwendung von Saline-Trypsin-Versen (STV mit 0,05 % Trypsin und 0,025 % Versen) bei einer Teilungsrate von 1 : 3.

## 1.3. Züchtung und Gewinnung des Saatvirus

Dichte Vero-Rollerkulturen wurden mit 1 ml Virus (unverdünnt) beimpft. Diese Kulturen wurden bei 37°C inkubiert und täglich auf cytopathischen Effekt (cpE) kontrolliert. Das Virus wurde bei ca. 80 %iger virusspezifischer Zellerstörung geerntet. Dies war beim Stamm T 98 am 3. Tag p.i., beim Stamm Jones am 8. Tag p.i. und beim Stamm Dearing am 3. Tag p.i. der Fall. Der Zellaufschluß erfolgte über einmaliges Gefriertauen bei - 70°C. Die nach Zentrifugation (2.750 g) gewonnene zellfreie Virussuspension wurde in Portionen zu 3 ml bei - 70°C gelagert.

## 1.4. Titration des Hämagglutinins

Die Bestimmung des Hämagglutinintiters der geernteten Reoviren wurde im Hämagglutinations-Test (HA) im Mikrotitersystem durchgeführt. Hierzu fanden Mikroplatten (8 x 12 Löcher, U-Form, System Cook, Firma Greiner), Mikroverdünner und Mikropipetten mit einer Volumengröße von

0,025 ml (Firma Cook Engineering Co., Alexandria, Virginia, USA) Verwendung. Die Verdünnung der zellfreien Virussuspension erfolgte in 2-er Potenzen. Den Antigenverdünnungen wurden jeweils 0,025 ml einer 1 %igen Humanerythrozytensuspension der Blutgruppe 0 zugesetzt. Anschließend wurden die Platten nach kurzem Schütteln zur Inkubation bei Zimmertemperatur belassen, bis sich die Erythrozyten sedimentiert hatten. Dies dauerte in der Regel ca. 30 Minuten. Bewertet wurde nur die volle Agglutination (III) als Endtiter.

#### 1.5. Untersuchte Seren

Insgesamt standen zur Untersuchung 601 Einzelseren von Menschen verschiedenen Alters zur Verfügung. Diese Seren waren im Winter 1977/78 gesammelt worden und bis zur Verwendung bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert worden. 356 der zur Verfügung stehenden Seren entstammten dem Labor des Zentrums der Hygiene, Abteilung für Medizinische Virologie der Universität Frankfurt/Main. Die restlichen 245 Seren erhielten wir vom Staatlichen Medizinal-Untersuchungsamt Dillenburg (Hessen)\*. Die 601 untersuchten Seren ließen sich folgendermaßen aufteilen: Seren von 100 Patienten mit Angabe einer klinischen Diagnose aus dem Einzugsgebiet Frankfurt/Main (= Einzugsgebiet 1);

Seren von 401 Personen ohne Vorbericht aus den Einzugsgebieten 1 und Dillenburg (= Einzugsgebiet 2) und Seren von 100 gesunden Kontrollpersonen aus dem Einzugsgebiet 1. Innerhalb des gesamten Untersuchungsmaterials war es möglich, die Seren dem Alter der Spender, das von den ersten Lebenstagen bis zum Alter von über 80 Jahren reichte, entsprechend in 13 Gruppen zu unterteilen. Nähere Angaben befinden sich in der Tabelle 1.

---

\* Für die Überlassung der Seren danken wir Herrn Dr.med. M. Siege (Staatliches Medizinal-Untersuchungsamt Dillenburg).

| lfd. Nr. | Altersgruppe  | Zahl der unter-<br>suchten Seren<br>in der HAH | Zahl der unter-<br>suchten Seren<br>in der KBR |
|----------|---------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 1        | 1 T. - 6 M.   | 22                                             | 20                                             |
| 2        | 7 M. - 2 J.   | 15                                             | 11                                             |
| 3        | 3 J. - 5 J.   | 17                                             | 13                                             |
| 4        | 6 J. - 10 J.  | 26                                             | 19                                             |
| 5        | 11 J. - 15 J. | 30                                             | 25                                             |
| 6        | 16 J. - 20 J. | 96                                             | 83                                             |
| 7        | 21 J. - 30 J. | 137                                            | 124                                            |
| 8        | 31 J. - 40 J. | 50                                             | 50                                             |
| 9        | 41 J. - 50 J. | 35                                             | 35                                             |
| 10       | 51 J. - 60 J. | 39                                             | 38                                             |
| 11       | 61 J. - 70 J. | 72                                             | 66                                             |
| 12       | 71 J. - 80 J. | 48                                             | 44                                             |
| 13       | >81 J.        | 14                                             | 12                                             |
|          | insgesamt     | 601                                            | 540                                            |

Tabelle 1: Aufteilung der in HAH und KBR untersuchten Seren  
entsprechend dem Alter der Donoren.

T. = Tag

M. = Monate

J. = Jahre

Die 100 Seren von Patienten mit unterschiedlichem klinischen Vorbericht, die uns zur Untersuchung zur Verfügung standen, konnten den klinischen Angaben entsprechend den folgenden Diagnosegruppen zugeordnet werden:

1. Fieberhafte Infektion
2. Infektion der oberen Atemwege (Grippe)
3. Viruspneumonie
4. Perikarditis/Myokarditis/Endokarditis
5. Meningitis/Encephalitis
6. Durchfall/Erbrechen

Alle Seren wurden in der HAH auf Antikörper gegenüber Reovirus der Serotypen 1, 2 und 3 untersucht, insgesamt 540 Seren darüber hinaus in der Komplementbindungsreaktion (KBR) auf gemeinsame komplementbindende Antikörper gegenüber Reoviren.

Alle Seren waren in der Routinediagnostik gleichzeitig

- a) in der KBR im Mikrotitersystem auf Antikörper gegen Influenza A<sub>2</sub>-Hongkong bzw. Viktoria, Influenza B-Hongkong, Para-Influenza 1, 2 und 3 und
- b) im Mikroneutralisationstest gegen Coxsackievirus A9, A23 und B4 untersucht worden.

## 1.6. Vorbehandlung der Seren

Manche Säugerspezies besitzen in ihrem Serum thermostabile Inhibitoren, die gegen Reoviren gerichtet sind. Diese Inhibitoren können zu mißverständlichen positiven Reaktionen in der HAH führen (24) und müssen deshalb vor Durchführung der HAH-Teste aus den Seren entfernt werden. Wir untersuchten vergleichsweise die Kaolinbehandlung und die  $\text{MnCl}_2$ -Heparin-Behandlung zur Inhibitor-eliminierung.

### 1.6.1. Kaolinbehandlung

0,2 ml hitzeinaktiviertes Serum (30 Minuten bei  $56^\circ\text{C}$ ) wurden anteilmäßig mit 0,65 ml physiologischer Kochsalzlösung versetzt, dazu wurden 1,0 ml 25 %iges Kaolin (Bolus alba) gegeben. Diese Mischung wurde 20 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert, danach 20 Minuten bei 420 g zentrifugiert, der Überstand vom Kaolin abgesaugt und als Serumausgangsverdünnung (1 : 8) in der HAH eingesetzt.

### 1.6.2. $\text{MnCl}_2$ -Heparin-Behandlung

0,5 ml Serum wurden zusammen mit 0,05 ml  $\text{MnCl}_2$  (1-molar), 0,04 ml Heparin (5.000 I.E./ml) und 0,91 ml NaCl über 20 Minuten bei  $+4^\circ\text{C}$  inkubiert und im Anschluß daran für 10 Minuten bei 420 g zentrifugiert. Danach wurden dem Überstand 2,0 ml NaCl hinzugefügt, um eine Serumausgangsverdünnung von 1 : 8 zu erreichen.

### 1.6.3. Isoagglutinin

Zur Adsorption der in den Menschenserum evtl. vorhandenen Isoagglutinine gegenüber Menschenerythrozyten wurden die Seren im Anschluß an die unter 1.6.1. und 1.6.2. beschriebenen Methoden mit 0,025 ml einer 10 %igen Humanerythrozytensuspension, Blutgruppe 0, versetzt und unter mehrmaligem Schütteln bei  $+4^{\circ}\text{C}$  über 12 Stunden inkubiert.

Nach den Ergebnissen der Untersuchung zum Vorkommen von Seruminhhibitoren wurden im Weiteren alle Seren der folgenden Vorbehandlung unterzogen:

1. Inaktivierung bei  $56^{\circ}\text{C}$  über 30 Minuten im Wasserbad,
2. Vorbehandlung mit 25 %igem Kaolin entsprechend der beschriebenen Methode.

Auf Grund der erhaltenen negativen Ergebnisse zum Vorkommen von Isoagglutininen, konnte auf die Erythrozytenadsorption verzichtet werden.

### 1.7. Hämagglutinationshemmungstest (HAH)

Die HAH wurde im Mikrotitersystem (U-Platten, System Cook, Firma Greiner) durchgeführt. Es wurde mit Reaktionsmengen von 0,025 ml gearbeitet. Die Serumausgangsverdünnung betrug 1 : 8 und wurde unter Verwendung von Mikro-Dilutern in 2-er Potenzen bis zur Verdünnung von 1 : 512 weitergeführt. Zu jeder Serumverdünnung wurden 4 hämagglutinierende Einheiten (HAE) Reovirus zugesetzt. Die Bindungszeit dieses Gemisches betrug 30 Minuten bei Raumtemperatur. Danach wurden zu jedem Serum-Antigengemisch 0,025 ml einer 1 %igen

Humanerythrozytensuspension der Blutgruppe O zugegeben. Der Test wurde bei Raumtemperatur inkubiert, die Ableseung erfolgte nach vollständiger Sedimentierung der Erythrozyten (nach ca. 1 Stunde). Jedem Testansatz liefen Serumkontrollen sowie eine Rücktitration des eingesetzten Antigens parallel.

Als Hämagglutinationshemmungstiter der untersuchten Seren wurde die letzte Serumverdünnung gewertet, die noch eine völlige Hemmung der Agglutination erzielte. Als beweisend für diese völlige Hemmung wurde das zungenförmige Auslaufen der sedimentierten Erythrozyten angesehen.

#### 1.8. Komplementbindungsreaktion (KBR)

Die Durchführung der KBR erfolgte im Mikrotitersystem.

Als Antigen wurde "Reovirus Group Antigen For Complement Fixation Test", Titer 1: 8, Firma Microbiological Associates, Walkersville, Maryland, USA, verwendet.

Die Seren wurden in Verdünnungen von 1: 5 bis 1 : 40 angesetzt. Es wurde mit 4 komplementbindenden Einheiten (KBE) gearbeitet. Parallel zu jeder Serumtitration wurden Serum und Normalantigenkontrollen (Reovirus Group Antigen) angesetzt, durch Antigenkontrollen sowie eine positive und eine negative Serumkontrolle wurde jeder Versuchsansatz abgesichert. Die Serum-Antigen-Komplementgemische wurden über 18 Stunden bei + 4°C im Kühlschrank gebunden. Nach der Bindungszeit wurde das hämolytische System zugegeben und bei 30 Minuten bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Nach eingetretener Hämolyse, die in den Kontrollen vollständig sein mußte, wurden die Platten bei 340 g 2 Minuten zentrifugiert und anschließend visuell abgelesen. Die Ablesung erfolgte anhand der 100 % Methode, Reaktionen bis zu 2 + wurden als positiv gewertet.

## 2. Ergebnisse

### 2.1. Eliminierung unspezifischer Inhibitoren aus den Seren

Zur Eliminierung unspezifischer Inhibitoren war an 21 Seren vergleichend die Wirkung von Kaolin und  $\text{MnCl}_2$ -Heparin untersucht worden.

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, erwies sich die Kaolinbehandlung der  $\text{MnCl}_2$ -Heparin-Methode überlegen. Die durch Kaolin mitentfernten Antikörpermengen waren so gering, daß wegen der besseren Eliminierung unspezifischer Inhibitoren in den weiteren Untersuchungen dieser Methode der Vorzug gegeben wurde. Dies ermöglichte auch einen Vergleich mit in jüngerer Zeit publizierten Ergebnissen, deren Autoren sich ebenfalls der Kaolinmethode bedient hatten.

.

### 2.2. Vorhandensein von Isoagglutininen in den Seren

Innerhalb der Untersuchungen, die durchgeführt wurden, um ein geeignetes Verfahren zur Behandlung der Seren vor ihrem Einsatz in der HAH zu finden, konnte festgestellt werden, daß gegenüber den verwendeten menschlichen Erythrozyten der Blutgruppe O in keinem der untersuchten Seren Isoagglutinine vorhanden waren.

Eine Übersicht über Ergebnisse der vergleichenden HAH von Seren mit und ohne Isoagglutininadsorption ist in der Tabelle 3 gegeben. Auf Grund dieser Befunde konnte in den weiteren Untersuchungen auf eine Erythrozytenadsorption verzichtet werden.

| Serum-<br>Nr. | HAH-Antikörpertiter in den Seren gegenüber |                                |        |                                |        |                                |
|---------------|--------------------------------------------|--------------------------------|--------|--------------------------------|--------|--------------------------------|
|               | Reo 1                                      |                                | Reo 2  |                                | Reo 3  |                                |
|               | Kaolin                                     | MnCl <sub>2</sub> -<br>Hepafin | Kaolin | MnCl <sub>2</sub> -<br>Hepafin | Kaolin | MnCl <sub>2</sub> -<br>Hepafin |
| 6             | 1: 8                                       | 1: 8                           | <1: 8  | 1:16                           | 1:16   | 1:32                           |
| 7             | <1: 8                                      | <1: 8                          | 1: 8   | 1:16                           | <1: 8  | <1: 8                          |
| 8             | <1: 8                                      | <1: 8                          | 1: 8   | 1:16                           | <1: 8  | <1: 8                          |
| 9             | 1:32                                       | 1:32                           | <1: 8  | 1:16                           | 1: 8   | 1:16                           |
| 10            | <1: 8                                      | <1: 8                          | 1: 8   | 1:16                           | <1: 8  | 1:16                           |
| 11            | <1: 8                                      | <1: 8                          | <1: 8  | <1: 8                          | <1: 8  | 1: 8                           |
| 12            | 1: 8                                       | 1:16                           | <1: 8  | 1:16                           | 1:32   | 1:32                           |
| 13            | <1: 8                                      | 1: 8                           | <1: 8  | 1:16                           | 1:16   | 1:16                           |
| 14            | <1: 8                                      | <1: 8                          | <1: 8  | 1:16                           | 1: 8   | 1:16                           |
| 15            | 1:16                                       | 1:16                           | 1:16   | 1:32                           | <1: 8  | 1:16                           |
| 16            | <1: 8                                      | 1: 8                           | <1: 8  | 1:16                           | 1:16   | 1:32                           |
| 17            | <1: 8                                      | <1: 8                          | 1: 8   | 1:16                           | <1: 8  | 1: 8                           |
| 18            | <1: 8                                      | <1: 8                          | 1: 8   | 1:16                           | <1: 8  | 1:16                           |
| 19            | 1: 8                                       | 1:16                           | 1:16   | 1:32                           | 1:16   | 1:32                           |
| 20            | 1: 8                                       | 1: 8                           | <1: 8  | 1:16                           | <1: 8  | 1:16                           |
| 21            | <1: 8                                      | 1: 8                           | <1: 8  | 1:16                           | 1: 8   | 1:16                           |
| 22            | <1: 8                                      | <1: 8                          | <1: 8  | 1:16                           | <1: 8  | <1: 8                          |
| 23            | <1: 8                                      | 1: 8                           | 1: 8   | 1:16                           | 1: 8   | 1:16                           |
| 24            | <1: 8                                      | 1: 8                           | 1:16   | 1:32                           | 1: 8   | 1:32                           |
| 25            | <1: 8                                      | <1: 8                          | <1: 8  | 1: 8                           | 1: 8   | 1: 8                           |
| 26            | <1: 8                                      | 1: 8                           | 1:16   | 1:32                           | 1:16   | 1:32                           |

Tabelle 2: Ergebnisse der vergleichenden Untersuchung über die Wirkung der beiden eingesetzten Verfahren zur Eliminierung unspezifischer Inhibitoren an 21 Seren.

| Serum-<br>Nr. | HAH-Antikörpertiter in den Seren                               |        |       |                                  |        |       |
|---------------|----------------------------------------------------------------|--------|-------|----------------------------------|--------|-------|
|               | nach Erythrozyten-<br>adsorption<br><br>(Blutgruppe human "0") |        |       | ohne Erythrozyten-<br>adsorption |        |       |
|               | Reo 1                                                          | Reo 2  | Reo 3 | Reo 1                            | Reo 2  | Reo 3 |
| 47            | < 1: 8                                                         | 1:16   | 1:16  | < 1: 8                           | 1: 8   | 1:16  |
| 48            | < 1: 8                                                         | 1:32   | 1: 8  | < 1: 8                           | 1:32   | 1: 8  |
| 49            | < 1: 8                                                         | 1: 8   | 1:16  | < 1: 8                           | 1: 8   | 1:32  |
| 50            | 1:32                                                           | < 1: 8 | 1:16  | 1:32                             | < 1: 8 | 1: 8  |
| 51            | < 1: 8                                                         | 1: 8   | 1:32  | < 1: 8                           | 1: 8   | 1:32  |
| 52            | < 1: 8                                                         | 1:32   | 1: 8  | < 1: 8                           | 1:16   | 1: 8  |
| 53            | < 1: 8                                                         | 1: 8   | 1:16  | < 1: 8                           | 1: 8   | 1:16  |
| 54            | < 1: 8                                                         | < 1: 8 | 1:16  | < 1: 8                           | 1: 8   | 1:16  |
| 55            | 1:16                                                           | 1:16   | 1:16  | 1:16                             | 1: 8   | 1:16  |
| 56            | < 1: 8                                                         | 1:64   | 1:16  | < 1: 8                           | 1:32   | 1:16  |
| 57            | < 1: 8                                                         | 1:16   | 1:16  | < 1: 8                           | 1:16   | 1:16  |
| 58            | 1: 8                                                           | 1:64   | 1:128 | 1: 8                             | 1:64   | 1:128 |
| 59            | 1: 8                                                           | 1:64   | 1:128 | 1: 8                             | 1:64   | 1:128 |
| 60            | < 1: 8                                                         | 1:16   | 1:64  | < 1: 8                           | 1:16   | 1:64  |
| 61            | < 1: 8                                                         | 1:16   | 1:16  | < 1: 8                           | 1:16   | 1:16  |

Tabelle 3: Ergebnis der Untersuchung von 15 Seren mit und ohne Erythrozytenadsorption in der HAH gegenüber Reovirus Serotyp 1, 2 und 3.

### 2.3. Vorkommen von HAH-Antikörpern gegenüber Reovirus der Serotypen 1, 2 und 3 in Menschenseren

Die Ergebnisse der Untersuchung auf HAH-Antikörper gegen Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3 ließen den Schluß zu, daß Infektionen mit Reoviren unter der Bevölkerung des hessischen Raumes weit verbreitet sind. Wertet man Titer ab 1 : 8 als positiv, was bei den vorbehandelten Seren gerechtfertigt ist, so war fast jede der untersuchten Personen irgendwann in Kontakt mit Reoviren gekommen.

Von den 601 insgesamt untersuchten Seren reagierten 90 % positiv gegenüber einem oder mehreren Reovirus-Serotypen. Am häufigsten konnten wir Antikörper gegenüber Serotyp 3 nachweisen, 81 % der Seren reagierten positiv gegenüber diesem Serotyp. Gegenüber Reovirus Serotyp 2 wiesen 48 % der untersuchten Seren und gegenüber Reovirus Serotyp 1 38 % Antikörper auf. In 35 % der Seren waren Antikörper gegenüber nur einem Serotyp nachweisbar, gegenüber zwei Serotypen reagierten 34 % und gegenüber allen drei untersuchten Serotypen 22 % positiv. Eine Aussage über den infizierenden Serotyp ist in diesen Fällen auf Grund der Tatsache, daß vor allem zwischen Serotyp 1 und 2 herero-logie Mitkraktionen auftreten, nicht möglich. Bei einer Aufschlüsselung der Befunde hinsichtlich der Antikörpertiter der Einzelseren (siehe Tabelle 4) zeigte sich eine Dominanz von Seren mit HAH-Titern bis zu einer Verdünnung von 1 : 16. Der Anteil positiver Seren mit Titern dieser Größenordnung betrug gegenüber Reovirus Serotyp 1 21,6 %, Serotyp 2 28,5 % und Serotyp 3 44,2 %. Der Anteil positiver Seren mit Titern von 1 : 32 bis 1 : 64 betrug jeweils 11,8 %, 17,5 % und 32,5 %. Seren mit Titern von 1 : 128 bis 1 : 512 konnten gegenüber Reovirus Serotyp 1 in 5,1 %, gegenüber Reovirus Serotyp 2 in 2,3 % und gegenüber Reovirus Serotyp 3 in 4,7 % aller untersuchten Seren nachgewiesen werden.

| Reovirus<br>Serotyp | Anzahl und Prozentsatz von Seren mit HAH-Antikörpertitern von |      |       |      |        |      |        |      |        |      |         |     |         |     | Anzahl und Prozent-<br>satz insgesamt po-<br>sitiver Seren |      |
|---------------------|---------------------------------------------------------------|------|-------|------|--------|------|--------|------|--------|------|---------|-----|---------|-----|------------------------------------------------------------|------|
|                     | < 1 : 8                                                       |      | 1 : 8 |      | 1 : 16 |      | 1 : 32 |      | 1 : 64 |      | 1 : 128 |     | 1 : 256 |     | 1 : 512                                                    |      |
|                     | Zahl                                                          | %    | Zahl  | %    | Zahl   | %    | Zahl   | %    | Zahl   | %    | Zahl    | %   | Zahl    | %   | Zahl                                                       | %    |
| 1                   | 370                                                           | 61,6 | 82    | 13,6 | 48     | 8,0  | 38     | 6,3  | 33     | 5,5  | 19      | 3,2 | 10      | 1,7 | 1                                                          | 0,2  |
| 2                   | 312                                                           | 51,9 | 105   | 17,5 | 66     | 11,0 | 68     | 11,3 | 36     | 6,0  | 6       | 1,0 | 8       | 1,3 | 0                                                          | 0    |
| 3                   | 112                                                           | 18,6 | 148   | 24,6 | 118    | 19,6 | 123    | 20,5 | 72     | 12,0 | 21      | 3,5 | 6       | 1,0 | 1                                                          | 0,2  |
|                     |                                                               |      |       |      |        |      |        |      |        |      |         |     |         |     | 231                                                        | 38,4 |
|                     |                                                               |      |       |      |        |      |        |      |        |      |         |     |         |     | 289                                                        | 48,1 |
|                     |                                                               |      |       |      |        |      |        |      |        |      |         |     |         |     | 489                                                        | 81,4 |

Tabelle 4: Verteilung von Seren mit unterschiedlichen HAH-Antikörpertitern bei insgesamt 601 untersuchten Personen.

### 2.3.1. Prozentuale Häufigkeit positiver Seren und durchschnittliche Antikörpertiter in Seren von Personen unterschiedlichen Alters

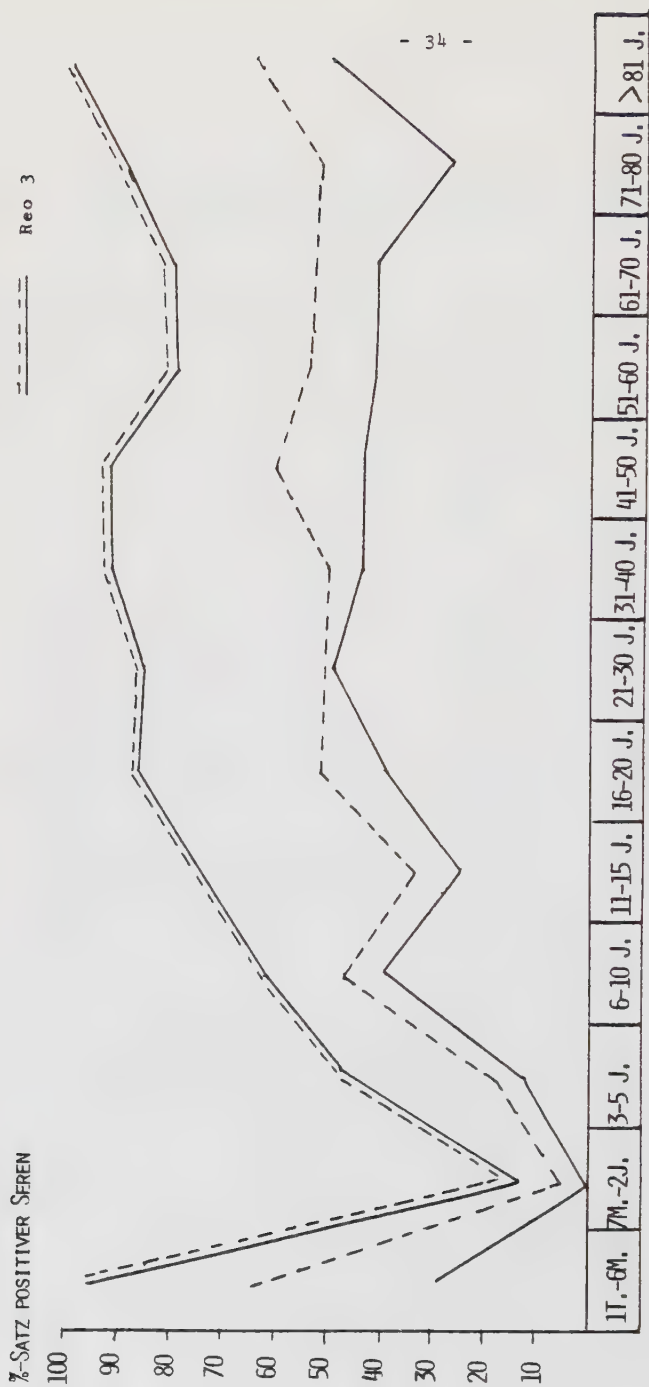
Die im HAH-Test untersuchten 601 Seren konnten dem Alter der Spender entsprechend in 13 Gruppen aufgeteilt und die serologischen Ergebnisse diesen Gruppen zugeordnet werden. Für jede Altersgruppe und für jeden Reovirus Serotyp wurde die Anzahl nachgewiesener positiver Seren errechnet. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 5 und Abbildung 2 wiedergegeben. In der Gruppe der bis 6 Monate alten Kinder entsprach der prozentuale Anteil positiver Reagenten gegenüber allen drei Serotypen in etwa dem der untersuchten Erwachsenen. Bei den 7 Monate bis 2 Jahre alten Kindern sank dieser Anteil signifikant, teilweise bis auf Null ab, um dann bei den 3 bis 5-jährigen Kindern wieder anzusteigen und bei den 6 bis 10-jährigen ein erstes Maximum zu finden. In der Altersklasse der Jugendlichen (11 bis 15-jährige Kinder) reduzierte sich der prozentuale Anteil positiver Seren zunächst, stieg aber bei den 16 bis 20-jährigen wieder an und persistierte in den folgenden Altersklassen.

Die positiven Seren der einzelnen Altersgruppen wurden unterteilt nach der Höhe ihrer Antikörpertiter und die errechneten Titer in Bezug gesetzt zur Gesamtzahl der in der jeweiligen Altersklasse untersuchten Seren und zur Zahl der in den einzelnen Altersklassen positiven Seren, um so entsprechende Durchseuchungswerte zu erhalten. Diese Befunde sind in den Abbildungen 3 und 4 dargestellt. Generell läßt sich sagen, daß die durchschnittlichen Antikörpertiter, sowohl bezogen auf die Gesamtzahl der in der jeweiligen Altersklasse untersuchten Seren als auch bezogen auf die positiven Seren der jeweiligen Altersklasse, bei den bis 6 Monate alten Kindern gegenüber allen drei Reovirus

| Altersgruppe  | Zahl der unter-<br>suchten Seren | Reovirus Serotyp               |                                |                                |
|---------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|               |                                  | 1<br>positive<br>Seren in<br>% | 2<br>positive<br>Seren in<br>% | 3<br>positive<br>Seren in<br>% |
| 1 T. - 6 M.   | 22                               | 27                             | 64                             | 96                             |
| 7 M. - 2 J.   | 15                               | 0                              | 7                              | 13                             |
| 3 J. - 5 J.   | 17                               | 12                             | 18                             | 47                             |
| 6 J. - 10 J.  | 26                               | 39                             | 46                             | 62                             |
| 11 J. - 15 J. | 30                               | 23                             | 33                             | 77                             |
| 16 J. - 20 J. | 96                               | 39                             | 51                             | 87                             |
| 21 J. - 30 J. | 137                              | 49                             | 52                             | 85                             |
| 31 J. - 40 J. | 50                               | 44                             | 50                             | 92                             |
| 41 J. - 50 J. | 35                               | 43                             | 60                             | 91                             |
| 51 J. - 60 J. | 39                               | 41                             | 54                             | 80                             |
| 61 J. - 70 J. | 72                               | 40                             | 39                             | 81                             |
| 71 J. - 80 J. | 48                               | 27                             | 52                             | 79                             |
| > 81 J.       | 14                               | 50                             | 64                             | 100                            |
| insgesamt:    | 601                              | 38                             | 48                             | 81                             |

Tabelle 5: Prozentuale Häufigkeit von HAH-Antikörpern gegenüber Reovirus Serotyp 1, 2 und 3 in den Seren von Personen verschiedenen Alters

T. = Tag  
M. = Monate  
J. = Jahre



ALTER

Abb. 2: Prozentuale Häufigkeit hämagglutinationshemmender Antikörper gegenüber Reovirus der Serotypen 1, 2 und 3 in den Seren von Personen unterschiedlichen Alters.

T. = Lebenstag  
M. = Lebensmonat  
J. = Lebensjahr

# HAU-DURCHSCHNITTITITER

1:50

1:45

1:40

1:35

1:30

1:25

1:20

1:15

1:10

1:8

Reo 1  
Reo 2  
Reo 3

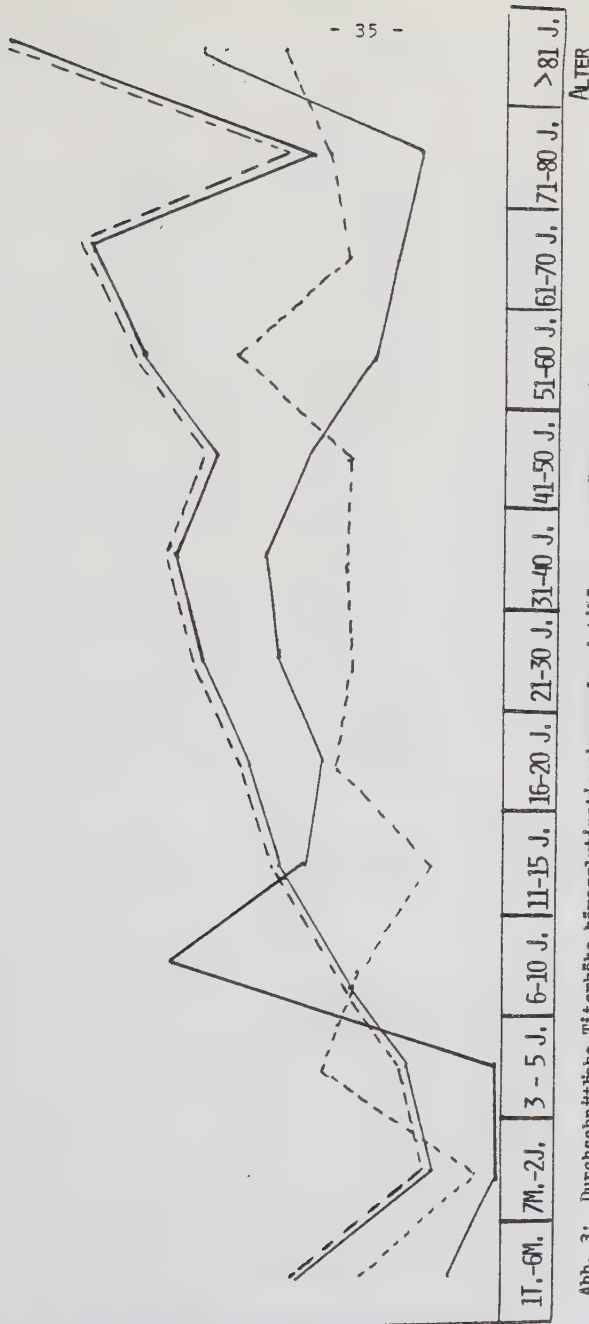


Abb. 3: Durchschnittliche Titerhöhe hämagglutinationshemmender Antikörper gegenüber Reovirus der Serotypen 1, 2 und 3 bei Personen verschiedener Altersklassen, bezogen auf die Gesamtzahl der in der jeweiligen Gruppe untersuchten Seren.

T. = Lebenstag

M. = Lebensmonat

J. = Lebensjahr

HAU-DURCHSCHNITTSTITER

1:100

1:90

1:80

1:70

1:60

1:50

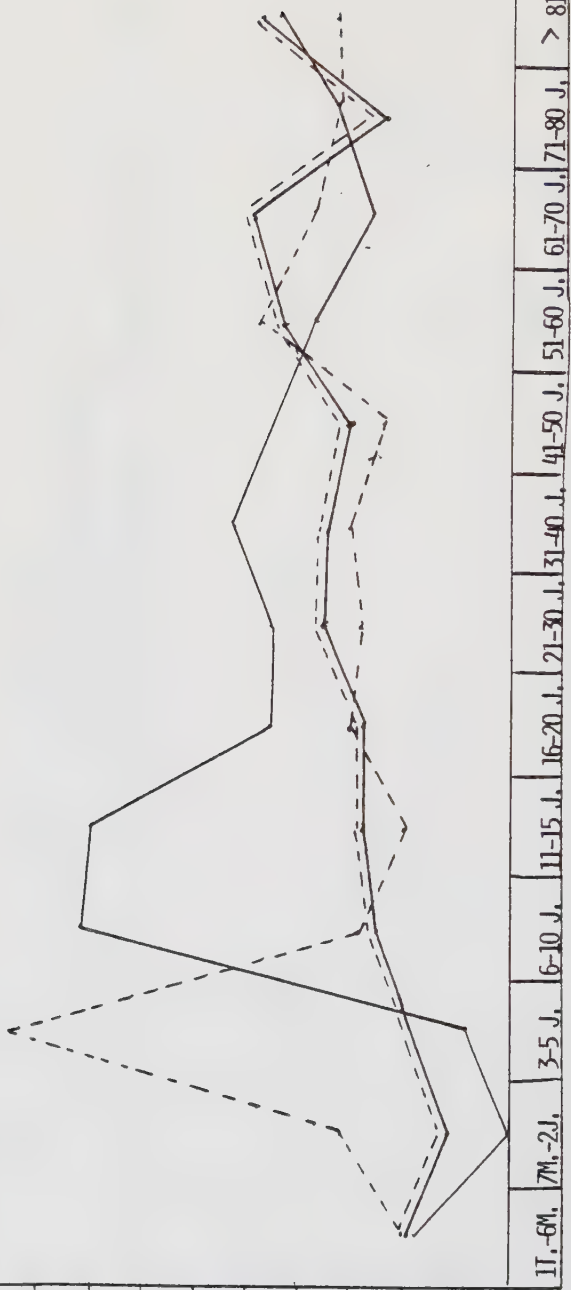
1:40

1:30

1:20

1:10

1:8



ALTER

Abb. 4: Durchschnittliche Titerhöhe hämagglutinationshemmender Antikörper gegenüber Reovirus der Serotypen 1, 2 und 3 bei Personen verschiedener Altersklassen, bezogen auf die positiven Seren der jeweiligen Altersklasse.

T. = Lebenstag

M. = Lebensmonat

J. = Lebensjahr

Serotypen relativ niedrig waren. Ein deutlicher Anstieg der Durchschnittstiter gegenüber Serotyp 1 und 2 erfolgte in den Gruppen der bis 10-jährigen Kinder. Innerhalb der serologischen Befunde der Gruppe der gesunden Personen des Lebensbereiches von 11/15 Jahren bis zum 50. Lebensjahr ergab sich in etwa ein Plateau, innerhalb dessen nur geringe Antikörperbewegungen zu verzeichnen waren. Bei den Personen höheren Alters waren dann wieder deutliche Fluktuationen hinsichtlich der Antikörpertiter zu verzeichnen (siehe Abbildung 3 und 4). Gegenüber Serotyp 3 ergaben sich Antikörperbefunde, die insgesamt ab der Gruppe der 7 Monate bis 2 Jahre alten Kinder bis zur Gruppe der 70-jährigen Personen einen gleichmäßig aufsteigenden Trend zeigten. In den folgenden Altersgruppen war dann ein Absinken der Durchschnittstiter gegenüber diesem Serotyp bis zu den Werten der Kleinkinder zu verzeichnen, dem bei den älteren der untersuchten Personen noch ein Anstieg mit einem absoluten Titermaximum folgte.

### 2.3.2. Gegenüberstellung der serologischen Befunde kranker und gesunder Personen

Die Befunde 100 kranker Personen wurden denen von 445 gesunden Menschen der Einzugsbereiche 1 und 2 gegenübergestellt. Die Ergebnisse, die in der Tabelle 6 zusammengestellt sind, zeigen, daß in den Seren erkrankter Personen signifikant häufiger Reovirusantikörper nachzuweisen waren, als in den Seren gesunder Personen und daß die Durchschnittswerte der Antikörpertiter deutlich über denen der Personen ohne klinisch manifeste Erkrankung lagen (siehe Tabelle 6). Schlüsselt man die serologischen Befunde der Patienten auf die einzelnen Diagnosegruppen auf, so ergibt sich folgendes Bild (siehe Tabelle 7): Gegenüber Reovirus Serotyp 1 konnten in der Gruppe der Patienten mit Infek-

| Personengruppe                                                          | Einzugs-<br>gebiet | HAH-Antikörper gegenüber |    |       |    |       |    |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------------|----|-------|----|-------|----|
|                                                                         |                    | Reo 1                    |    | Reo 2 |    | Reo 3 |    |
|                                                                         |                    | D.-T.                    | %  | D.-T. | %  | D.-T. | %  |
| 100 erkrankte<br>Personen mit<br>Angabe einer<br>klinischen<br>Diagnose | 1                  | 1:24                     | 43 | 1:23  | 58 | 1:48  | 93 |
| 100 gesunde<br>Kontrollperso-<br>nen                                    | 1                  | 1: 6                     | 26 | 1: 5  | 30 | 1:14  | 56 |
| 345 gesunde<br>Personen                                                 | 1 + 2              | 1:10                     | 30 | 1: 8  | 37 | 1:17  | 68 |

Tabelle 6: Prozentuale Häufigkeit und Durchschnittstiter positiver Seren gegenüber Serotyp 1, 2 und 3 kranker und gesunder Personen (Einzugsbereiche 1 und 2).

D.-T. = Durchschnittstiter

% = Prozentsatz positiver Seren

| Diagnosegruppe                                     | Zahl der unter-<br>suchten Seren<br>in jeder Gruppe | HAH-Antikörper gegenüber<br>Reovirus Serotyp |    |       |    |       |     |
|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------|----|-------|----|-------|-----|
|                                                    |                                                     | 1                                            |    | 2     |    | 3     |     |
|                                                    |                                                     | D.-T.                                        | %  | D.-T. | %  | D.-T. | %   |
| 1. Fieberhafte<br>Infektion                        | 26                                                  | 1:31                                         | 58 | 1:30  | 73 | 1:49  | 85  |
| 2. Infektion<br>der oberen<br>Atemwege<br>(Grippe) | 15                                                  | 1:37                                         | 44 | 1:33  | 56 | 1:32  | 100 |
| 3. Virus-<br>pneumonie                             | 14                                                  | 1:43                                         | 57 | 1:14  | 50 | 1:41  | 86  |
| 4. Perikarditis/<br>Myokarditis/<br>Endokarditis   | 30                                                  | 1:12                                         | 27 | 1:14  | 57 | 1:35  | 90  |
| 5. Meningitis/<br>Encephalitis                     | 10                                                  | 1:16                                         | 50 | 1:29  | 50 | 1:42  | 100 |
| 6. Durchfall/<br>Erbrechen                         | 5                                                   | 1: 6                                         | 20 | 1:16  | 60 | 1:85  | 100 |
| insgesamt:                                         | 100                                                 | 1:24                                         | 43 | 1:23  | 58 | 1:48  | 93  |

Tabelle 7: Häufigkeit und Durchschnittstiter von HAH-Antikörpern gegenüber Reovirus der Serotypen 1, 2 und 3 in Seren von 100 erkrankten Personen.

D.-T. = Durchschnittstiter

% = Prozentsatz positiver Seren

tionen der oberen und unteren Atemwege jeweils die höchsten Durchschnittstitern nachgewiesen werden. Dieser Befund weist darauf hin, daß Serotyp 1 in dieser Patientengruppe auch der infizierende Serotyp war. Nachdem keine Serumpaare zur Untersuchung zur Verfügung standen, kann nicht geklärt werden, inwieweit die mit nachgewiesenen Seroreaktionen gegenüber den beiden anderen Serotypen die Folge heterologer Mitreaktionen sind.

Innerhalb der Gruppe der Patienten mit Darmerkrankungen und mit fieberhaften Symptomen von Seiten des ZNS lagen die Antikörpertiter gegenüber Reovirus Serotyp 3 signifikant über denen der gegenüber den Typen 1 und 2 gebildeten. Nicht ganz so deutlich ausgeprägt verhielt sich das Antikörperspektrum der Patienten, deren Vorbericht lediglich auf eine fieberhafte Infektion hinwies. Gegenüber den untersuchten anderen Virusarten konnte keine Antikörperbildung festgestellt werden.

#### 2.4. Vorkommen komplementbindender Antikörper in den Seren von Personen unterschiedlichen Alters

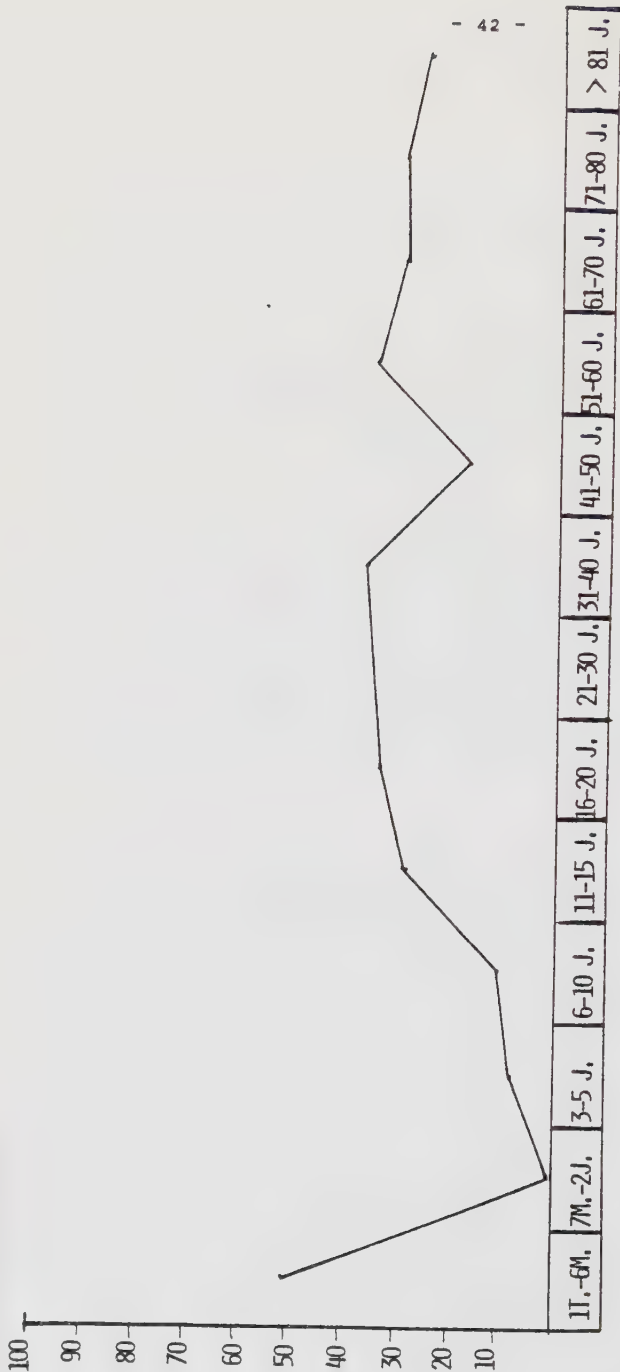
Von den 540 in der KBR gegenüber Reovirus-Gruppenantigen untersuchten Seren reagierten insgesamt nur 30 % positiv. Von diesen 30 % wiesen 15,7 % Titer von 1 : 5, 10,4 % Titer von 1 : 10, 3,5 % Titer von 1 : 20 und 0,4 % Titer von 1 : 40 auf. Eine Übersicht über diese Ergebnisse ist in Tabelle 8 gegeben.

Die in der KBR untersuchten 540 Einzelseren waren den gleichen Altersgruppen zugeordnet worden, wie die in der HAH untersuchten Seren. Diese Ergebnisse sind in Abbildung 5 und in Tabelle 9 dargestellt. Bezüglich der Antikörpertiter in den Seren von Personen der einzelnen Altersklassen konnten wir fest-

| Komplementbindende Antikörper unterschiedlichen<br>Titters in Menschenserum |      |       |      |        |      |        |     |        |     |
|-----------------------------------------------------------------------------|------|-------|------|--------|------|--------|-----|--------|-----|
| < 1 : 5                                                                     |      | 1 : 5 |      | 1 : 10 |      | 1 : 20 |     | 1 : 40 |     |
| Zahl                                                                        | %    | Zahl  | %    | Zahl   | %    | Zahl   | %   | Zahl   | %   |
| 378                                                                         | 70,0 | 85    | 15,7 | 56     | 10,4 | 19     | 3,5 | 2      | 0,4 |

Tabelle 8: Übersicht über den prozentualen Anteil von Seren mit unterschiedlichen Titern komplementbindender Antikörper bei insgesamt 540 untersuchten Personen.

% SATZ POSITIVER SEREN



- 42 -

Abb. 5: Prozentuale Häufigkeit komplementbindender Antikörper gegenüber Reovirus-Gruppenantigen in den Seren von Personen unterschiedlichen Alters.

T. = Lebenstag  
M. = Lebensmonat  
J. = Lebensjahr

| Altersgruppe  | Prozentsatz in der<br>HAH positiver Seren<br>gegenüber Reovirus<br>Serotyp |    |     | Prozentsatz in der<br>KBR positiver Seren<br>gegenüber Reovirus-<br>Gruppenantigen |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------|----|-----|------------------------------------------------------------------------------------|
|               | 1                                                                          | 2  | 3   |                                                                                    |
| 1 T. - 6 M.   | 27                                                                         | 64 | 96  | 50                                                                                 |
| 7 M. - 2 J.   | 0                                                                          | 7  | 13  | 0                                                                                  |
| 3 J. - 5 J.   | 12                                                                         | 18 | 47  | 8                                                                                  |
| 6 J. - 10 J.  | 39                                                                         | 46 | 62  | 11                                                                                 |
| 11 J. - 15 J. | 23                                                                         | 33 | 77  | 28                                                                                 |
| 16 J. - 20 J. | 39                                                                         | 51 | 87  | 33                                                                                 |
| 21 J. - 30 J. | 49                                                                         | 52 | 85  | 35                                                                                 |
| 31 J. - 40 J. | 44                                                                         | 50 | 92  | 36                                                                                 |
| 41 J. - 50 J. | 43                                                                         | 60 | 91  | 17                                                                                 |
| 51 J. - 60 J. | 41                                                                         | 54 | 80  | 34                                                                                 |
| 61 J. - 70 J. | 40                                                                         | 39 | 81  | 29                                                                                 |
| 71 J. - 80 J. | 27                                                                         | 52 | 79  | 30                                                                                 |
| > 81 J.       | 50                                                                         | 64 | 100 | 25                                                                                 |

Tabelle 9: Ergebnis der vergleichenden Untersuchung über das Vorkommen hämagglutinationshemmender und komplementbindender Antikörper gegenüber Reoviren in Seren von Personen unterschiedlichen Alters.

T. = Tag  
M. = Monate  
J. = Jahre

stellen, daß die Seren mit KBR-Titern 1 : 10 und größer sich zu gleichen Prozentsätzen auf die Gruppe der bis zu 6 Monate alten Kinder und auf die Erwachsenen von 21 bis 40 Jahren verteilte. Dies machte insgesamt 14,3 % der positiven Seren aus. 15,7 % positiver Seren mit einem KBR-Titer von 1 : 5 ergaben sich als Summe der positiven Seren von den Donoren der anderen Altersklassen.

#### D. Besprechung der Ergebnisse

Mit den vorliegenden Ergebnissen konnte nachgewiesen werden, daß Infektionen mit Säugerreoviren der Serotypen 1, 2 und 3 bei Personen der untersuchten Bevölkerungsgruppe weit verbreitet sind. Aus den Untersuchungen stichprobenartig entnommener und untersuchter Einzelseren ist es nur in seltenen Fällen möglich, Hinweise auf den tatsächlich infizierenden Serotyp zu erhalten (66). In den Seren eines hohen Prozentsatzes der untersuchten Personen konnten wir Antikörper gegenüber allen drei Reovirus Serotypen nachweisen, der prozentuale Anteil positiver Seren stand in guter Übereinstimmung zu den Befunden, die von THEIN und EPP (66) in ihren Untersuchungen an der bayerischen Bevölkerung erhoben werden konnten.

Vergleicht man die Literatur (13, 16, 31, 32, 48, 52, 54, 55) über Untersuchungen zum Vorkommen von HAH-Antikörpern gegenüber Reoviren in der Bevölkerung verschiedener Teile der Welt, so findet sich namentlich zu den Untersuchungen von TAYLOR-ROBINSON und TYRRELL (54), LERNER et al. (32) sowie LEERS und ROZEE (31) Übereinstimmung bezüglich der Prozentsätze in der HAH positiver Seren gegenüber den einzelnen Serotypen.

Nicht immer waren allerdings in den zitierten Arbeiten

auch Antikörper gegenüber Serotyp 3 mituntersucht worden. Die Ursache hierfür sehen wir darin, daß dieser Serotyp eine Sonderstellung hinsichtlich seines Hämagglutinins und seines Verhalten in der Zellkultur einnimmt, und das manche Autoren wahrscheinlich auf Grund der daraus erwachsenden Schwierigkeiten auf eine Einbeziehung dieses Serotyps in ihren Untersuchungen verzichteten. Ein Vergleich der serologischen Ergebnisse muß sich somit in manchen Fällen auf die Antikörper gegenüber den Serotypen 1 und 2 beschränken. Dies trifft auch zu auf das serologische Screening von SCHMIDT et al. (48), die Einzelseren von Personen unterschiedlichen Alters aus Mitteldeutschland auf HAH-Antikörper gegenüber Reoviren der Serotypen 1 und 2 untersuchten. Diese Verfasser wiesen im Gegensatz zu unseren und den Ergebnissen anderer Autoren (31, 32, 54, 66) nach, daß gegenüber Serotyp 2 signifikant mehr Personen Antikörper gebildet hatten als gegenüber Serotyp 1 und daß der prozentuale Anteil positiver Seren gegenüber Reovirus Serotyp 2 in den verschiedenen Altersklassen keinen nennenswerten Schwankungen unterlag.

Übereinstimmendes Ergebnis aller überschaubaren Untersuchungen zum Vorkommen von HAH-Antikörpern gegenüber Reoviren aller drei Serotypen in Menschenseren ist, daß die Reovirusinfektion unter natürlichen Verhältnissen vorwiegend klinisch inapparent verläuft. Befunde, die an verschiedenen Haustierspezies des süd- und westdeutschen Raumes erhoben werden konnten, erbrachten Prozentsätze positiver Seren bei Pferd, Rind und Hund, die der von uns untersuchten menschlichen Population in etwa entsprachen (1, 40, 57, 74). Zu diesen Fällen parallel laufende Untersuchungen zum Nachweis klinisch manifester Reovirusinfektionen ergaben, daß auch hier die Reovirusinfektion vorwiegend klinisch inapparent verlief.

Betrachtet man die vorliegenden Ergebnisse hinsichtlich der Verteilung von Antikörpern gegenüber Reoviren bei Menschen unterschiedlichen Alters, so zeigt sich, daß ein hoher Prozentsatz der untersuchten Säuglinge bis zum 6. Lebensmonat über maternale Antikörper gegenüber allen drei Reovirus Serotypen verfügte. Ein Vergleich der prozentualen Anteile positiver Seren ergibt, daß die Gruppe dieser Kinder über annähernd die gleichen Werte verfügte, wie die Gruppe der 20 bis 40-jährigen, die die potentiellen Eltern darstellen und daß sich dieses Ergebnis sowohl auf die HAH-als auch auf die komplementbindenden Antikörper erstreckte. Dieses Ergebnis ist zu erwarten, handelt es sich doch bei den Säuglingen um passiv erworbene Antikörper, die sich bis Ende des 6. Lebensmonats wieder ausschleichen. Innerhalb der Gruppe der 7 Monate bis 2 Jahre alten Kinder konnten wir nur vereinzelt Antikörper gegen Serotyp 2 und 3 nachweisen. Gegenüber Serotyp 1 reagierten alle untersuchten Seren negativ. Ganz offensichtlich erwerben die Kinder erst im Alter von 3 bis 5 Jahren aktiv Antikörper durch wiederholten Kontakt mit Reoviren im Gefolge der in diesem Alter üblichen Biotopwechsel durch Kindergartenbesuch, Austausch der Keimflora mit spielenden Kindern usw. Ein ähnlicher Effekt tritt dann nochmals im Alter von 6 bis 10 Jahren auf, wenn die Kinder die Schule besuchen. Hinsichtlich der Antikörperbildung dokumentiert sich dieses Infektionsgeschehen zum einen in einer deutlichen Zunahme seropositiver Kinder, zum anderen in einem signifikanten Anstieg ihrer Antikörpertiter. Interessanterweise waren in unseren Ergebnissen hierbei vorwiegend Infektionen mit Serotyp 1 nachweisbar. Serologische Untersuchungen, die von TAYLOR-ROBINSON und TYRRELL (54), LERNER et al. (32) sowie LEERS und ROZEE (31) zu diesem Problem angestrengt wurden, bestätigen diese Befunde. Aus der Literatur liegen keinerlei Berichte über vergleichende Untersuchungen von HAH- und komplementbindenden Antikörper vor.

Unseren diesbezüglichen Ergebnissen zufolge, sind die komplementbindenden Antikörper gegenüber Reovirus-Gruppenantigenen nur in Fällen akuter Infektionen in Parallele zu HAH-Antikörpern nachzuweisen. Ihre Persistenz lag deutlich unter der der HAH-Antikörper. Die Folge des Milieuwechsels, des Keimaustausches innerhalb neu zusammengebrachter Kindergruppen aus verschiedenen Elternhäusern und die mit Kindergartenbesuch und Einschulung verbundene Streßsituation sind auch als Ursache dafür anzusehen, daß Reoviren vorwiegend bei Menschen dieses Alters die Chance der Haftung, Vermehrung und Absiedlung erhalten und damit zur klinisch manifesten Infektion führen können. Darauf wiesen auch die Untersuchungsergebnisse von LEERS und ROZEE (31) und LERNER et al. (32) hin. Eine ähnliche Situation dürfte unseren Befunden zufolge auch bei den über 70-jährigen Menschen vorliegen. Die Immunität gegenüber Viren wird im Alter abgebaut, der alte Mensch ist vermehrt Streßsituationen ausgesetzt und muß sich in dieser Lage mit der ubiquitär vorhandenen Erregern auseinandersetzen. Die in den vorliegenden Untersuchungen zu beobachtende Fluktuation hinsichtlich der Antikörpertiter mit dem Erreichen einzelner hoher Titermaxima bei Personen dieser Altersgruppe gegenüber der Personengruppe zwischen 16 und 60 Jahren kann als Hinweis auf diese Situation angesehen werden.

Vorliegende Ergebnisse können somit im Weiteren als Hinweis darauf gewertet werden, daß die Reovirusinfektion auch beim Menschen der Gruppe der Faktorenerkrankungen zugeordnet werden kann, wie dies bei verschiedenen Haustierspezies bereits nachgewiesen wurde (1, 3, 5, 40, 56, 57, 58, 59, 60, 75, 76).

Es ist bekannt daß Reoviren bei Haustieren relativ häufig an Mischinfektionen beteiligt sind (3, 5, 56, 60, 65, 75, 76).

Ein synergistisches Zusammenwirken von Reoviren mit anderen mikrobiellen Erregern kann sicher auch beim Menschen dazu führen, daß banale Infektionen in klinisch manifeste Erkrankungen konvertieren können.

Für unsere Untersuchungen erkrankter Personen standen aus technischen Gründen keine Serumpaare zur Verfügung. Vergleicht man jedoch die serologischen Befunde der Gruppe der erkrankten mit denen der gesunden Probanden, so erhalten wir auch daraus einen Hinweis auf die Beteiligung von Reoviren an den beobachteten Infektionen. In allen Fällen konnten auf Grund der parallel laufenden diagnostischen Untersuchungen Infektionen mit anderen Viren an den beobachteten Erkrankungen ausgeschlossen werden. In Übereinstimmung mit den in der Literatur gemachten Angaben (61, 66) war auch in dieser Untersuchung die Beteiligung von Reovirus Serotyp 1 an Erkrankungen der Atemwege am ausgeprägtesten. Hinweise auf die Beteiligung von Reovirus Serotyp 3 erhielten wir vorwiegend in Fällen mit ZNS-Symptomatik oder intestinalen Störungen. Interessanterweise betrug das Alter der Hälfte der Patienten, bei denen wir auf Grund der Antikörperbefunde eine Beteiligung von Reoviren an der beobachteten Krankheit vermuten können, mehr als 60 Jahre. Dieser Befund deckt sich mit den bereits besprochenen serologischen Ergebnissen. Inwieweit wir es bei allen untersuchten Patienten mit primären Reovirusinfektionen zu tun hatten oder inwieweit die hohen Prozentsätze seropositiver Personen in diesem Kreise und die signifikant höheren Antikörpertiter gegenüber Personen ohne klinische Anamnese die Folge von Sekundärinfektionen durch Reoviren sind, können wir auf Grund unseres Untersuchungsgutes (Einzelseren) nicht klären.

## E. Zusammenfassung

601 Einzelseren von Menschen unterschiedlichen Alters wurden auf das Vorkommen von HAH-Antikörpern gegenüber Reovirus Serotyp 1, 2 und 3 untersucht. Von diesen Seren reagierten 38 % positiv gegenüber Serotyp 1, 48 % gegenüber Serotyp 2 und 81 % gegenüber Serotyp 3. In 35 % der Seren waren Antikörper nur gegenüber einem Serotyp nachweisbar, gegenüber zwei Serotypen reagierten 34 % und gegenüber allen drei untersuchten Serotypen 22 % positiv.

Die Seren konnten entsprechend dem Alter der Spender 13 Altersklassen zugerechnet und der prozentuale Anteil der positiven Seren in den einzelnen Gruppen berechnet werden. Aus den hierbei erhaltenen Ergebnissen geht hervor, daß die maternal übertragenen Antikörper bei den Säuglingen des Lebensbereiches 7 Monate bis 2 Jahre teilweise vollkommen verschwunden waren. Im Alter von 3 bis 10 Jahren erwerben die Kinder dann, wahrscheinlich durch gehäuften Kontakt mit einer neuen Umwelt durch Kindergartenbesuch und Einschulung, vermehrt aktiv Antikörper. Bei den über 70 Jahre alten Menschen kommt es durch Nachlassen der Immunität gegenüber Viren und vermehrten Streß-situationen gehäuft zu Infektionen mit Reoviren, die in der erneuten Bildung von Antikörpern ihren Ausdruck finden. Den erhaltenen Untersuchungsergebnissen zufolge ist die Infektion mit Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3 überwiegend eine Infektion der Kleinkinder, wobei klinisch inapparente Verlaufsformen die Regel sind.

Seren von 100 Patienten mit Angabe einer klinischen Diagnose und 100 Seren gesunder Personen aus dem gleichen Einzugsgebiet konnten vergleichsweise mit weiteren 401 Seren von Personen ohne Angabe hinsichtlich klinischer Anamnese

aus einem anderen Einzugsgebiet untersucht werden. In allen Fällen konnten in den Seren der Patienten, die ihrer Krankheit entsprechend in 6 Diagnosegruppen unterteilt werden konnten, signifikant öfter HAH-Antikörper gegenüber Reoviren nachgewiesen werden, deren Titer über denen der Kontrollpersonen lagen. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß bei den Erwachsenen die Beteiligung von Reovirus Serotyp 1 an Erkrankungen der Atemwege stark ausgeprägt war. Eine Beteiligung von Reovirus Serotyp 3 konnte überwiegend in Fällen mit ZNS-Symptomatik oder intestinalen Störungen nachgewiesen werden. Eine Beteiligung der anderen Virusarten, gegenüber denen die Seren der Patienten mituntersucht worden waren, konnte ausgeschlossen werden.

In der Komplementbindungsreaktion gegenüber Reovirus-Gruppenantigenen wurden vergleichsweise 540 Seren untersucht. Hierbei ergab sich eine signifikante Häufung positiver Seren in der Altersgruppe der Säuglinge bis zum vollendeten 6. Lebensmonat. Diese Seren glichen den Befunden der 20 bis 40-jährigen, während in den untersuchten Seren von Personen der restlichen Altersgruppen nur vereinzelt komplementbindende Antikörper nachzuweisen waren.

### Summary

601 serum samples from humans of varying ages were tested for the presence of HI antibodies against reovirus serotypes 1, 2 and 3. 38 per cent of the samples showed positive reactions to serotype 1, 48 per cent to serotype 2, and 81 per cent to serotype 3. In 35 per cent of the samples antibodies were detectable against only one serotype, in 34 per cent against two serotypes, and 22 per cent reacted positively to all three serotypes tested.

The samples were assigned to one of 13 age groups according to the age of the donor, and the percentage share of positive samples was calculated for each group. The results show that the antibodies transferred from the mother had completely disappeared in some cases in unweaned babies from 7 months to 2 years. Between 3 and 10 years the children acquired many more active antibodies, probably through the increased frequency of contact with a new environment arising out of kindergarten attendance and starting school. Among people over 70 years old the falling off in immunity against viruses and increase in stress situations leads to increased frequency of reovirus infection, as shown by the new formation of antibodies. The results of the investigations shown that infection by reovirus serotypes 1, 2 and 3 is very largely affecting smaller children where the progress is normally not clinically apparent.

Samples from 100 patients for who a clinical diagnosis was available and 100 samples from healthy people from the same catchment area were investigated together with samples from 401 others without case histories from another area. In every case it was possible to detect a significantly higher

level of HI antibodies in samples from patients, who were divided into 6 diagnostic groups according to their disease, the normality laying above that of the control subjects. These researches show that among adults there is a sharp increase in reovirus serotype 1 in cases of respiratory diseases. Reovirus serotype 3 was detected largely in cases of diseases of the central nervous system or intestinal disorders. Other forms of virus were also tested for in the serum samples, and these could be duly ruled out.

540 samples were tested by complement fixation for reovirus group antigen. This showed a significant concentration of positive samples in the age group of infants up to the end of the sixth month of life. The samples reflected the results in the group 20 to 40, while in the samples from other age groups only isolated cases of complement-fixing antibodies could be found.

F. Literaturverzeichnis

1. Ackermann, U. (1975) Seroepizootologische Untersuchungen über das Vorkommen von Reo-, Adeno-, Herpes-, Parainfluenza- und Influenzaviren beim Hund.  
Vet. med. Diss., Univ. München
2. Anderson, N. und M.A. Mufson (1972) Viral antibodies among the turkana people of northern kenya.  
Trop. geogr. Med., 24, 168
3. Bachmann, P.A., G. Härtl, P. Thein, B. Bibrack und A. Mayr (1972) Über das Vorkommen und die Verbreitung von Virusarten beim Pferd in der Bundesrepublik Deutschland, die bei respiratorischen Erkrankungen mitbeteiligt sein können.  
Zbl. Vet. Med. B, 19, 801
4. Bibrack, B. (1975) Serologische Untersuchungen über die Mitbeteiligung von Influenza A<sub>2</sub>/Hongkong-Infektionen beim<sup>2</sup> Zwingerhusten des Hundes.  
Zbl. Vet. Med. B, 22, 28
5. Bibrack, B., U. Ackermann und F. Benary (1975) Serologische Untersuchungen über das Vorkommen von Virusinfektionen bei gesunden und an Zwingerhusten erkrankten Hunden.  
Zbl. Vet. Med. B, 22, 265
6. Binn, L.N., E.C. Laszar, J. Helms und R.E. Cross (1970) Viral antibody patterns in laboratory dogs with respiratory disease.  
Am. J. Vet. Res. 31, 697

7. Belák, S. und V. Pálfi (1974) Isolation of reovirus type 1 from lambs showing respiratory and intestinal symptoms. Arch. Ges. Virusforsch. 41, 177
  
8. Belák, S. und V. Pálfi (1974) Experimental infection of lambs with reovirus type 1 isolated from sheep. Acta Vet. Acad. Sci. hung. 24, Fasc. 241
  
9. Belák, S., V. Pálfi und E. Huszár (1974) Mass respiratory and intestinal disease of lambs caused by a reovirus. Magyar Allatorvosok Lapja 29, 14
  
10. Belák, S. und V. Pálfi (1974) Respiratory and gastrointestinal disease of lambs caused by reovirus. II. Experimental infection of lambs. Magyar Allatorvosok Lapja 29, 329
  
11. Bell, T.M., A. Massie, M.G.R. Ross und M.C. Williams (1964) Isolation of a reovirus from a case of burkitt's lymphoma. Brit. med. J. 1, 1212
  
12. Bell, T.M., A. Massie, M.G.R. Ross, D.I.H. Simpson und E. Griffin (1966) Further isolations of reovirus type 3 from cases of burkitt's lymphoma. Brit. med. J. 1, 1514
  
13. Brown, P.K. und D. Taylor-Robinson (1966) Respiratory virus antibodies in sera of persons living in isolated communities. Bull. W.H.O. 34, 895

14. Csiza, C.K. (1974) Characterization and sero-  
typing of three feline  
reoviruses.  
Inf. Imm. 2, 159
  
15. Dawson, P.S., P.H.  
Lamont und J.H.  
Darbyshire (1966) The aetiology and pathology  
of pneumonia in calves.  
Zit. nach Omar, A.R.  
Vet. Bull, 36, 1
  
16. El-Rai, F.M. und  
A.S. Evans (1963) Reovirus infections in  
children and young adults.  
Archives of environmental  
health 7, 700
  
17. Erasmus, B.J., L.M.  
Pieterse und S.I.  
Boshoff (1976) The isolation of reovirus  
from horses and zebra in  
south africa.  
Proceeding IV th Equine Int.  
Conf. Lyon, Karger Verlag
  
18. Fenner, F., H.G. Pereira,  
J.S. Porterfield,  
W.K. Joklik und A.W.  
Downie (1974) Family and generic names  
approved by the international  
committee on taxonomy of  
viruses.  
Intervirolgy, 3, 193
  
19. Fenner, F. (1976) Classification and nomen-  
clature of viruses.  
Karger, S., Basel
  
20. George, S. und  
T.J. John (1970) Reovirus antibodies in human  
sera in south india.  
Indian J. Med. Res. 58, 1680

21. Hartley, J.W., W.P.  
Rowe und J.B.  
Austin (1962) Subtype differentiation of  
reovirus type 2 strains by  
haemagglutination inhibition  
with mouse antisera.  
Virology 16, 94
  
22. Jackson, G.G., R.L.  
Muldoon und G.S.  
Cooper (1961) Reovirus type 1 as an etiolo-  
gic agent of the common cold.  
J. clin. invest. 40, 1051
  
23. Jackson, G.G., R.L.  
Muldoon, G.C. Johnson  
und H.F. Dowling (1963) Contributions of volunteers  
to studies on the common cold.  
Am Rev. Resp. Dis. 88, 120
  
24. Jackson, G.G. und  
R.L. Muldoon (1973) Viruses causing common respi-  
ratory infection in man. IV.  
Reoviruses and adenoviruses.  
J. of Infections Diseases,  
128, 814
  
25. Joske, R.A., D.D.  
Keall, P.J. Leak, N.F.  
Stanley und M.N.I.  
Walters (1964) Hepatitis-encephalitis in  
humans with reovirus infection.  
Arch. Int. Med. 113, 811
  
26. Kasel, J.A., L. Rosen  
und H.E. Evans (1963) Infection in human volunteers  
with a reovirus of bovine origin.  
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)  
112, 979
  
27. Knight, V., P.J. Gerone,  
W.R. Griffith, R.B. Couch,  
T.R. Cate, K.M. Johnson,  
D.L. Lang, H.E. Evans,  
A. Spickard und J.A.  
Kasel (1963) Studies in volunteers with  
respiratory viral agents.  
Am. Rev. Resp. Dis., 88, 135

28. Knocke, K.-W.,  
H. Pittler und  
W. Höpken (1967) Nachweis von Reo-Viren in  
Abwässern.  
Zbl. Bakt., I., Abt. Orig.  
203, 417
29. Krainor, L.U. und  
B.E. Aronson (1959) Disseminated encephalomye-  
litis in the human with  
recovery of hepatoencephalitis  
virus (HEV) pathologic and  
virologic report.  
J. Neuropath. exp. Neurol, 18,  
339
30. Lamont, P.H., J.H.  
Darbyshire, P.S.  
Dawson, A.R. Omar  
und A.R. Jennings (1968) Pathogenesis and pathology  
of infections in calves with  
strains of reovirus types 1  
an 2.  
J. Comp. Pathol., 78, 23
31. Leers, W.D. und  
K.R. Rozee (1966) A survey of reovirus antibodies  
in sera of urban children.  
Canad. Med. Ass. J. 94, 1040
32. Lerner, A.M., J.D.  
Cherry, J.O. Klein  
und M. Finland (1962) Infections with Reoviruses.  
New Engl. J. Med. 267, 947
33. Lerner, A.M., J.D.  
Cherry und  
M. Finland (1963) Haemagglutination with reo-  
virus.  
Virology, 19, 58
34. Lou, T.Y. und  
H.A. Wenner (1963) Natural and experimental in-  
fection of dogs with reovirus,  
type 1: Pathogenicity of the  
strain for other animals.  
Am. J. Hyg. 77, 293

35. Massie, L. und  
E.D. Shaw (1966) Reovirus type 1 in laboratory dogs.  
Am. J. Vet. Res. 27, Nr. 118,  
783
36. Mayr, A., B. Mayr,  
P. Thein und G.  
Wizigmann (1979) Funktionell-synergistische  
Kombinationsvaccinen. Ein  
neuer Impfstofftyp.  
Zbl. Vet. Med. B, im Druck
37. Mc Ferran, J.B., R.  
Nelson, J.N. McCracken  
und J.G. Ross (1969) Virus isolated from sheep.  
Nature, 221, 194
38. Miles, J.A.R., F.J.  
Austin, F.N.  
McNamara und  
T. Magwire (1965) Isolation of reovirus type 3  
from mosquitoes and from bird  
blood from south wortland.  
Proc. Univ. Otago med. Sch.  
43, 27
39. Munube, G.M.R., T.M.  
Bell, P.M. Tukei  
und P.G. Smith (1972) Sero-epidemiologie of reovirus  
type 3 infections in four  
areas of uganda with varying  
incidence of burkitt's tumor.  
East African Medical J. 49, 369
40. Reinhardt, G. (1972) Untersuchungen über das Vor-  
kommen von Reoviren bei Rin-  
dern in Süddeutschland.  
Vet. med. Diss., Univ. München
41. Rosen, L. und F.R.  
Abinanti (1960) Natural and experimental  
infection of cattle with human  
type of reoviruses.  
Am. J. Hyg. 71, 250

42. Rosen, L., J.F. Hovis,  
F.M. Mastrotta, J.A.  
Bell und R.J. Huebner  
(1960) Observation on a newly  
recognized virus (abney) of  
the reovirus family.  
Am. J. Hyg. 71, 258
43. Rosen, L., J.F. Hovis,  
F.M. Mastrotta, J.A.  
Bell und R.J. Huebner  
(1960) An outbreak of infection with  
a type 1 reovirus among children  
in an institution.  
Am. J. Hyg. 71, 266
44. Rosen, L., F.R.  
Abinanti und J.F.  
Hovis  
(1963) Further observations on the  
natural infection of cattle  
with reoviruses.  
Am. J. Hyg. 77, 38
45. Rosen, L., H.E.  
Evans und  
A. Spickard  
(1963) Reovirus infections in human  
volunteers.  
Am. J. Hyg. 77, 29
46. Rosen, L.  
(1968) Reoviruses  
Virology Monographs, 1, 73
47. Sabin, A.B.  
(1956) The significance of viruses  
recovered from the intestinal  
tracts of healthy infants and  
children.  
Ann. N.Y. Acad. Sci. 66, 226
48. Schmidt, J., Chr.  
Tauchnitz und  
O. Kühn  
(1965) Untersuchungen über das Vor-  
kommen hämagglutinationshemmen-  
der Antikörper gegen die Reo-  
Virustypen 1 und 2 in der Be-  
völkerung.  
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 150, 269

49. Scott, F.W., D.E.  
Kahn und J.H.  
Gillespie (1970) Feline Viruses: Isolation, characterization and pathogenicity of a feline reovirus.  
Amer. J. Vet. Res. 31, 11
50. Stanley, N.F., D.C.  
Dorman und J.  
Ponsford (1953) Studies on the pathogenesis of a hitherto undescribed virus (hepato-encephalomyelitis) producing unusual symptoms in suckling mice.  
Austral. J. exp. Biol. 31, 147
51. Stanley, N.F., D.C.  
Dorman und J.  
Ponsford (1954) Studies on the hepato-encephalomyelitis virus (HEV).  
Austral. J. exp. Biol. 32, 543
52. Stanley, N.F., P.J.  
Leak, G.M. Grieve  
und D. Perret (1964) The ecology and epidemiology of reovirus.  
Aust. J. exp. Biol. Med. Sci. 42, 373
53. Stanley, N.F. (1967) Reoviruses.  
British Med. Bull. 23, 150
54. Taylor-Robinson, D.  
und D.A.J. Tyrrell (1962) Serological studies on some viruses isolated from common colds (Rhinoviruses).  
Brit. J. Exp. Path. 43, 264
55. Taylor-Robinson, D. (1965) Respiratory virus antibodies in human sera from different regions of the world.  
Bull. Wld Hlth Org. 32, 833

56. Thein, P. und A. Mayr (1974) Untersuchungen über die Bedeutung von Reovirus-Infektionen für respiratorische Erkrankungen beim Pferd. Zbl. Vet. Med. B, 21, 219
57. Thein, P. (1974) Reovirusinfektionen beim Pferd. Fortschritte der Veterinärmedizin, Zbl. Vet. Med. B, 20, 144
58. Thein, P. (1975) Zur Ätiologie und Epizootologie respiratorischer Viruserkrankungen des Pferdes. Proceedings XX World Vet. Congress 3, 2126
59. Thein, P. und G. Härtl (1976) Isolierung eines Reovirus aus einem respiratorisch erkrankten Pferd. Zbl. Vet. Med. B, 23, 698
60. Thein, P. und G. Härtl (1977) Untersuchungen zur Virusätiologie respiratorischer Erkrankungen beim Pferd. Colleg.Vet. 24 - 29
61. Thein, P. und R. Scheid (1977) Reoviruses. Kapitel in "Handbook of Zoonoses" Vol. II Viral Zoonoses, CRC Press, Cleveland, USA im Druck
62. Thein, P. (1977) Recent studies with mammalian reoviruses in horses. 1 th international Conference on the Reoviridae University Guelph, Ontario, Canada, May 1976

63. Thein, P. (1977) unveröffentlichte Angaben
64. Thein, P. (1978) Virusinfektionen der Atemwege des Pferdes und Möglichkeiten ihrer Bekämpfung. Prakt. Tierarzt, Heft 10, 733
65. Thein, P. (1978) Nachweis einer klinisch manifesten Mischinfektion mit Reovirus Serotyp III und Rhinopneumonitisvirus beim Pferd. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 91, 103
66. Thein, P. und Epp, Chr. (1978) Serologische Untersuchungen zum Vorkommen von Infektionen mit Reoviren beim Menschen. Münch. med. Wschr. 120, Nr. 42, 1385
67. Thein, P. (1979) Persönliche Mitteilungen
68. Tillotson, J.R. und A.M. Lerner (1966) Isolation of reovirus type 3 from postmortem tissues of a child with a nonbacterial pneumonia. Clin. Res. 14, 344
69. Tillotson, J.R. und A.M. Lerner (1967) Reovirus type 3 associated with fatal pneumonia. New. Engl. J. Med. 276, 1060
70. Trainor, P.D., S.B. Mohanty und F.M. Hetrick (1966) Experimental infection of calves with reovirus type 1. Amer. J. Epidemiol. 83, 217

71. Trofimov, N.M. (1974) Role of reovirus infection in the pathology of newborn babies and young infants.  
Vopr. Virusol., 19, 4, 483
72. Van Tongeren, H.A.E. (1957) A familial infection with hepatoencephalomyelitis virus in the Netherlands. Study on some properties of the infective agent.  
Arch. Ges. Virusforsch. 7, 429
73. Wellemans, G. (1969) Examen sérologique de quelques troupeaux de bovins atteints de troubles respiratoires.  
Annls. Méd. Vét. 113, 47
74. Wizigmann, G. und G. Reinhardt (1971) Untersuchungen über Reovirus-Infektionen beim Rind in der Bundesrepublik Deutschland.  
Zbl. Vet. Med. B, 18, 564
75. Wizigmann, G. (1974) Untersuchungen über Epidemiologie und Ätiologie der Rinder-grippe. 1. Vorkommen und Verbreitung von bovinen Adenoviren, Rhinoviren, Reoviren und Parainfluenza 3-Virus.  
Zbl. Vet. Med. B, 21, 563
76. Wizigmann, G. (1974) Untersuchungen über Epidemiologie und Ätiologie der Rinder-grippe. 2. Mitbeteiligung von bovinen Adenoviren, Rhinoviren, Reoviren und Parainfluenza 3-Virus bei Rinder-grippe-Erkrankungen.  
Zbl. Vet. Med. B, 21, 580
77. Zalan, E., W.D. Leers und N.A. Labzoffsky (1962) Occurrence of reovirus infection in ontario.  
Canad. Med. Ass. J. 87, 714

78. Zeller, R. (1968) Die klinische Diagnostik der Erkrankung des Respirationsapparates des Pferdes. Proc. 1 st Int. Conf. Equine Dis., Stresa
79. Zeller, R. und P. Teufel (1970) Untersuchungen zur respiratorischen Form der Rhinopneumonitis bei erwachsenen Pferden. Berl. Munch. Tierärztl. Wschr. 83, (18), 349

## G. Lebenslauf

Am 18.10.1948 wurde ich, Paul Fischer, als Sohn des Betriebsleiters Richard Fischer und seiner Ehefrau Angela, geb. Hamm, in Virum/Kopenhagen (Dänemark) geboren.

Von 1955 bis 1963 besuchte ich die Volksschule in Bergisch Gladbach-Paffrath. Von 1963 bis 1965 absolvierte ich die Städt. Handelsschule in Bergisch Gladbach. Bei der Firma Joh. Heider, Druckerei und Verlags-GmbH in Bergisch Gladbach, lernte ich von 1965 bis 1967 den Beruf des Industriekaufmannes. Anschließend besuchte ich das Erzbischöfliche Friedrich-Spee-Kolleg (Institut zur Erlangung der Hochschulreife) in Neuss. Nach bestandener Reifeprüfung 1969 studierte ich 3 Semester Jura an der Universität Köln. Im Wintersemester 1971/72 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität in Gießen. Am 27. Juni 1977 erhielt ich meine Approbation als Tierarzt.

Seit dem 1. November 1977 bin ich als wissenschaftlicher Angestellter am Zentrum der Hygiene, Abt. für Medizinische Virologie, des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main tätig. Seit dieser Zeit bin ich mit der Anfertigung dieser Dissertation beschäftigt.



Herrn Prof.Dr. Dr. h.c. A. Mayr danke ich herzlich für die Überlassung des Dissertationsthemas und Herrn Prof. Dr. G. May für die freundliche Aufnahme in seinem Institut und für das Entgegenkommen bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Dr. P.Thein danke ich besonders herzlich für die wertvollen Hinweise zur Bearbeitung des Themas, seine stets gewährte freundliche Hilfe sowie die Überlassung von Zellen und Virusstämmen.

Mein Dank gilt aber auch Fräulein U. Kauk für die Einführung in die serologische Untersuchungstechnik und die jederzeit gewährte Hilfe.

Für die vielen nützlichen Hinweise und für ihre Hilfsbereitschaft danke ich auch Fräulein H. Dräger und Fräulein V. Henseleit.





